

Efeitos da suplementação nutricional de hidrolisado hemicelulósico de sorgo sobre a produção de etanol e xilitol por levedura fermentadora de xilose

Ana Luísa Castro Ferreira Silva ^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 UFMG. E-mail: luisa.castro@ufvjm.edu.br

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

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

^dProfessora do Instituto de Ciência e Tecnologia da UFMG. E-mail: l.pantoja@ufvjm.edu.br

^eProfessor do Departamento de Ciências Básicas da UFMG. E-mail: alexandre.soares@ufvjm.edu.br

1

Resumo: A suplementação do meio fermentativo é, em muitos casos, essencial para o desempenho dos microrganismos usados na produção de etanol de 2ª geração e xilitol. O presente estudo analisou os efeitos da suplementação do hidrolisado hemicelulósico de sorgo biomassa com ureia e sulfato de magnésio para a produção de etanol e xilitol pela levedura *Candida akabanensis* UFMG-R131. A fermentação foi conduzida a 28°C sob agitação orbital de 150 rpm. Na melhor condição avaliada foi possível produzir 4,32 g L⁻¹ de etanol e 4,69 g L⁻¹ de xilitol.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*, pentoses, *Candida*, magnésio, ureia.

1 - Introdução

As biomassas lignocelulósicas representam fonte abundante de carboidratos com potencial aplicação em processos de conversão microbiana em produtos de interesse comercial. A produção de etanol de 2ª geração a partir de biomassas lignocelulósicas tem sido amplamente estudada como alternativa ao uso de combustíveis de origem fóssil. A destinação de biomassas lignocelulósicas para a produção de xilitol é uma outra estratégia para agregar valor a biorrefinarias (Bertholdo & Suhett, 2024).

O etanol de primeira geração é o principal biocombustível da matriz energética brasileira, sendo a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) a matéria-prima mais utilizada. O bagaço da cana-de-açúcar pode ser utilizado para produzir etanol de segunda geração. Como trata-se de cultura sazonal, a entressafra da cana-de-açúcar afeta o preço do açúcar e etanol, mas cria

oportunidade para o uso de outras biomassas (Barreto *et al.*, 2024).

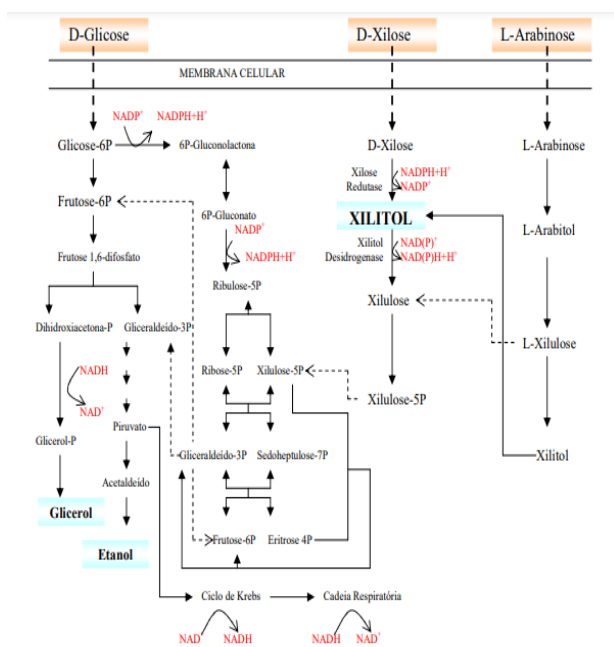
O xilitol é um poliol (C₅H₁₂O₅) que apresenta capacidade adoçante superior à sacarose, com apenas dois terços das calorias deste açúcar (Umai *et al.*, 2022). Além do consumo compatível a pacientes diabéticos em função de seu metabolismo ser independente de insulina, o xilitol apresenta benefícios como propriedades anticariogênicas e potencial para contribuir no tratamento de osteoporose e infecções de ouvido (Kaur *et al.*, 2022).

A sua obtenção comercial se dá pela rota química, por meio da hidrogenação catalítica da xilose. No entanto, esta via demanda alto consumo de energia e de químicos, o que implica em perda de competitividade em relação a outros polióis.

O xilitol é obtido por via biotecnológica através da redução da xilose em uma reação

catalisada pela enzima, xilose redutase, ligada à nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatada em sua forma reduzida (NADPH/NADH). A seguir, o xilitol é oxidado a xilulose, a qual é fosforilada a xilulose-5-fosfato, que pode ser convertida a piruvato através da conexão da via das pentoses com a via Embden-Meyerhof-Parnas (Hahn-Hagerdal *et al.*, 1994). Ao final do processo, o piruvato é convertido a etanol, conforme observado na Figura 1.

Figura 1. Esquema das vias metabólicas da glicose, xilose e arabinose em leveduras para obtenção de etanol e xilitol



Fonte: Adaptado de SILVA; FELIPE, 2006.

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), gramínea com estrutura semelhante à cana-de-açúcar, tem surgido como uma ótima solução para a produção, tanto de etanol quanto de xilitol, devido ao seu alto teor de açúcares fermentáveis e pela possibilidade de ser cultivado em temperaturas e áreas de clima tropical (Maw *et al.*, 2024). Além disso, o sorgo sacarino apresenta outras vantagens, como curto prazo do plantio à colheita (entre 90 e 120 dias), menor necessidade de fertilizantes, alta eficiência de utilização de água (1/3 de cana e 1/2 de milho) e

maior tolerância à salinidade e seca em relação à cana-de-açúcar e ao milho (Almodares *et al.*, 2007; Tew *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2018).

O processo de transformação da biomassa lignocelulósica proveniente do sorgo em etanol e xilitol ocorre por uma rota tecnológica que consiste no pré-tratamento, hidrólise dos polissacarídeos e conversão dos açúcares liberados (Thanapimmetha *et al.*, 2019). A hidrólise tem por objetivo a redução das macromoléculas de hemicelulose a moléculas simples, geralmente, através do uso de ácidos concentrados ou diluídos. Todavia, a utilização de ácidos gera como subprodutos inibidores como o furfural e o hidroximetilfurfural, provenientes da degradação dos açúcares; e o ácido acético, provenientes do grupo acetil da hemicelulose (Pontes *et al.*; 2023; Oladza *et al.*, 2024).

Os materiais hemicelulósicos, quando hidrolisados, fornecem em sua maioria, pentoses (xiloses e arabinoses), e em parcelas menores hexoses (glicoses, manoses e galactoses). As pentoses, por sua vez, não são fermentadas por leveduras industriais convencionais como as da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, havendo necessidade da utilização de outras linhagens, com tal capacidade, como leveduras *Galactomyces geotrichum* e *Candida akabananensis* (Valinhas *et al.*, 2018).

Durante o processo metabólico da levedura para a produção de etanol e xilitol há a necessidade da presença de nutrientes no meio fermentativo (Silva *et al.* 2022). As condições nutricionais do meio de fermentação são um fator relevante no processo, sendo a suplementação em muitos casos, essencial, favorecendo a melhoria do crescimento e desempenho do metabolismo do micro-organismo, principalmente quando a matéria-prima utilizada é bagaço ou palhada do sorgo, que é pobre em nutrientes. O nitrogênio e o carbono são os principais elementos para o desenvolvimento microbiano, uma vez que influenciam nas taxas de produção e tolerância ao

etanol (Okopi *et al.*, 2024). A ureia é uma fonte de nitrogênio mais acessível, que pode ser utilizada em substituição ao extrato de levedura, produto este, com alto valor comercial.

Além do carbono e nitrogênio, o magnésio (Mg) é essencial para várias vias metabólicas (Wang *et al.*, 2007; Xue *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2009). O magnésio atua como cofator de várias enzimas envolvidas na fermentação alcoólica, reduz a permeabilidade aniônica da membrana plasmática e interage com fosfolipídios da membrana, fato que resulta na estabilização da mesma (Deesuth *et al.*, 2012).

Considerando o contexto abordado, o presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da suplementação de hidrolisado hemicelulósico de sorgo biomassa com ureia e sulfato de magnésio sobre o desempenho da levedura *Candida akabanensis* UJVJM-R131 para a produção de etanol e xilitol.

2 - Material e Métodos

2.1. Obtenção e pré-processamento das amostras

As amostras de sorgo biomassa BRS 716 foram fornecidas pela Embrapa Milho e Sorgo, localizada na cidade de Sete Lagoas, Minas Gerais. As amostras foram submetidas à secagem, a 60°C, em estufa com circulação forçada de ar e cominuídas em moinho de faca equipado com peneira de malha de 0,2 mm.

2.2. Preparo do hidrolisado hemicelulósico

O preparo do hidrolisado foi realizado conforme condições previamente testadas, no qual, a biomassa foi adicionada a uma solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 4% (p/p), com razão sólido:líquido de 2:8 (20%). A mistura foi levada à autoclave por 30 minutos, a 1 atm e temperatura de 121°C para reação de hidrólise.

A fração solúvel foi recuperada por filtração à vácuo e a fração sólida, descartada. Ajustou-se pH do hidrolisado obtido com NaOH para valor de 5,5 e posteriormente foi

caracterizado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a identificação e a quantificação dos compostos que incluem inibidores, como o furfural, ácido acético e hidroximetilfurfural, além do glicerol e monossacarídeos (arabinose, xilose e glicose). As condições operacionais empregadas para as análises encontram-se na Tabela I.

Tabela I. Condições operacionais da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizada para determinação de compostos inibidores, açúcares redutores, glicerol, etanol e xilitol a partir de hidrolisado ácido de sorgo biomassa

Eluente	H ₂ SO ₄ 0,0025 mol L ⁻¹
Vazão da fase móvel	0,6 mL min ⁻¹
Volume de amostra	5 µL
Temperatura de coluna	60°C
Temperatura do detector IR*	40°C

*Índice de Refração.

Fonte: Autoria Própria, 2024.

2.3. Planejamento e condução dos ensaios de fermentabilidade

O planejamento dos ensaios fermentativos foi realizado por meio de delineamento composto central rotacional (DCCR) 2² contendo 4 pontos centrais (9C, 10C, 11C e 12C) e 4 pontos axiais (5X, 6X, 7X, 8X), onde foram avaliadas as influências dos fatores: concentração de ureia (CH₄N₂O) e concentração de sulfato de magnésio (MgSO₄). O planejamento foi realizado variando as concentrações de nutrientes entre 1,0 e 5,0 g L⁻¹, conforme Tabela III:

Tabela III. Planejamento experimental do tipo 2² para avaliação do processo fermentativo com hidrolisado de sorgo biomassa suplementado com ureia e sulfato de magnésio para produção

de etanol e xilitol pela linhagem *C. akabanensis* Ufvjm-R131

Ensaio	Ureia (g L ⁻¹)	Sulfato de magnésio (g L ⁻¹)
1	1,00	1,00
2	1,00	5,00
3	5,00	1,00
4	5,00	5,00
5X	0,17	3,00
6X	5,83	3,00
7X	3,00	0,17
8X	3,00	5,83
9C	3,00	3,00
10C	3,00	3,00
11C	3,00	3,00
12C	3,00	3,00
Controle	0,00	0,00

Fonte: Elaboração própria, 2024.

2.4. Obtenção e reativação do micro-organismo

A linhagem de levedura estudada, *C. akabanensis* Ufvjm-R131, proveniente do banco de microrganismos do Laboratório de Microbiologia dos Biocombustíveis (LabMBIO), registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) com o número de cadastro A18446, se encontrava preservada em meio sintético YEPMG (3,0 g L⁻¹ de extrato de levedura; 3,0 g L⁻¹ extrato de malte; 5,0 g L⁻¹ peptona de soja e 10 g L⁻¹ glicose) adicionado de 10% de glicerol, contidos em microtubos do tipo Ependorff de 2 mL. A referida levedura foi reativada por meio da técnica de inóculo central, no qual 10 µL foi pipetada em meio ágar YEPMX, contido em placas de Petri e espalhada sobre a superfície do meio gelificado. As placas inoculadas foram incubadas a 28°C em estufa microbiológica por um período de 48 horas.

2.5. Preparo do inóculo

A cultura de *C. akabanensis* Ufvjm-R131 proveniente da reativação foi inoculada por meio da adição de duas alçadas (alça com *loop* de 10 µL) em meio sintético YEPMX (3,0 g L⁻¹ de extrato de levedura; 3,0 g L⁻¹ extrato de malte; 5,0 g L⁻¹ peptona de soja e 10 g L⁻¹ xilose) previamente autoclavado. Em seguida, o inóculo foi incubado a 28°C sob agitação orbital de 150 rpm, até que fosse atingido população celular com turbidez de 1,0 *D. O*_{610 nm}.

2.6. Fermentação alcoólica

Os ensaios de fermentabilidade foram conduzidos em frascos cônicos tipo Erlenmeyer de 50 mL contendo 20 mL de hidrolisado hemicelulósico suplementados com ureia e sulfato de magnésio nas concentrações definidas no planejamento fatorial. A seguir, os frascos contendo as misturas foram submetidos à esterilização em autoclave por 10 minutos a 1 atm e temperatura de 121°C. Aliquotas de 2 mL do inóculo foram coletadas e submetidas à centrifugação por 10 minutos a 10000 rpm. As células foram recuperadas e ressuspensas nos meios fermentativos. O inóculo de *Candida akabanensis* Ufvjm-R131 adicionado aos meios fermentativos foi feito na capela de fluxo laminar e correspondeu a 10% (v v⁻¹). Por fim, os frascos foram incubados sob agitação orbital de 150 rpm e temperatura controlada de 28°C por 72 horas

2.7. Monitoramento das fermentações

Os ensaios fermentativos foram monitorados a intervalos regulares de 12 horas com coleta de 250 µL de amostra. O crescimento celular foi acompanhado por densidade óptica (D.O) e a quantificação de açúcares redutores, através do método colorimétrico com ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), descrito por Miller (1959) e adaptado segundo Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013). Ao final do processo foram quantificados os teores dos monossacarídeos de interesse bem como do xilitol, etanol, glicerol e

ácido acético por cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE.

2.7.1 Cálculos fermentativos

Os fatores produtividade volumétrica, rendimento fermentativo, e eficiência fermentativa foram analisados ao fim da fermentação.

i- A produtividade volumétrica ($Q_P - g L^{-1} h^{-1}$) foi calculada por meio da divisão da variação da concentração do produto (etanol e xilitol) em $g L^{-1}$ pela variação do tempo (h).

ii- O rendimento do produto ($Y_{P/S} - g_{produto} \cdot g_{substrato}^{-1}$) foi calculado por meio da divisão da concentração de etanol ou xilitol produzidos ($g L^{-1}$) pela concentração dos açúcares consumidos ($g L^{-1}$).

iii- A eficiência fermentativa do etanol (%) foi calculada por meio da divisão do rendimento do etanol ($Y_{P/S} - g_{produto} \cdot g_{substrato}^{-1}$) pelo valor de do rendimento teórico, igual a 0,511. O valor encontrado foi multiplicado por 100.

iii- A eficiência fermentativa do xilitol (%) foi calculada por meio da divisão do rendimento do xilitol ($Y_{P/S} - g_{produto} \cdot g_{substrato}^{-1}$) pelo valor de teórico, que é igual a 0,917. O valor encontrado foi multiplicado por 100.

2.8. Análises estatísticas

Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância a valor de $p=0,05$, conduzidas com o software STATISTICA versão 12.

3 - Resultados e Discussão

3.1. Caracterização do hidrolisado

O hidrolisado obtido de sorgo BRS 716 apresentou coloração marrom escuro, viscosidade baixa e alta turbidez. O seu pH foi de

5,5 após neutralização com hidróxido de sódio. O referido pH ligeiramente ácido diminui o risco de contaminação por bactérias e não afeta negativamente o metabolismo da levedura (Wu *et al*, 2022).

A partir da Tabela IV foi possível observar os tipos de açúcares presentes no hidrolisado de sorgo e suas respectivas concentrações. O açúcar encontrado em maior quantidade foi a xilose, seguida da arabinose e, em menor concentração, a glicose.

Tabela IV. Açúcares presentes no hidrolisado ácido de sorgo BRS-716 sem suplementação e suas respectivas concentrações

Glicose (g L ⁻¹)	Xilose (g L ⁻¹)	Arabinose (g L ⁻¹)	Açúcares totais (g L ⁻¹)
3,02 ±0,502	28,70 ±0,34	5,60 ±0,074	37,32 ±1,005

Os inibidores presentes estavam em baixas concentrações, indicando que as condições estabelecidas para a obtenção do hidrolisado foram eficientes.

Tabela V. Concentração de glicerol e inibidores presentes no hidrolisado de sorgo BRS-716 sem suplementação

HMF* (g L ⁻¹)	Furfural (g L ⁻¹)	Ácido acético (g L ⁻¹)	Glicerol (g L ⁻¹)
0,04 ±0,014	0,13 ±0,016	2,92 ±0,056	0,17 ±0,05

* HMF: Hidroximetilfurfural.

Fonte: Elaboração própria, 2024.

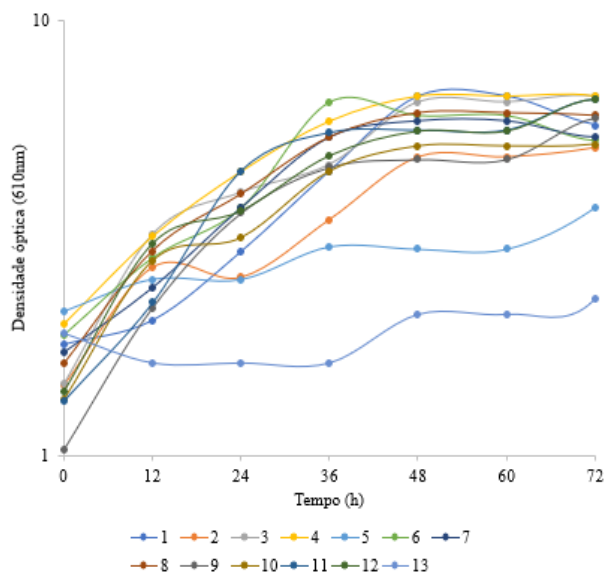
3.2. Ensaio fermentativo

3.2.1 Crescimento celular

Os perfis de crescimento celular observados na Figura 2 permitiram identificar que dentre as condições avaliadas, a fase

logarítmica, caracterizada por um crescimento exponencial das células microbianas, ocorreu nas primeiras 12h para a maioria dos ensaios, exceto para o ensaio 1, que iniciou essa fase a partir das 24h. Cabe mencionar que os ensaios 2, 3, 5 e 10, após passarem pela fase logarítmica retomaram o crescimento a partir de 24h e permaneceram crescendo até às 48h. A fase estacionária foi atingida entre 36 e 48h.

Figura 2. Crescimento celular em processo de fermentação conduzido com a levedura *C. akabanensis* UFVJM R131 em meios contendo diferentes concentrações de ureia e sulfato de magnésio



Fonte: Elaboração própria, 2024.

Nos ensaios 5X e Controle, foram observados os menores valores de crescimento celular. Fenômeno que pode ser explicado pelo fato de estes serem os ensaios com menor concentração de ureia ($0,17 \text{ g L}^{-1}$ e $0,00 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente). O sulfato de magnésio não apresentou efeito significativo para o crescimento da levedura.

3.2.2 Produção de etanol e xilitol

As condições fermentativas estudadas que apresentaram os melhores resultados para a produção simultânea de etanol e xilitol foram os ensaios do ponto central (9C, 10C, 11C e 12C)

(Tabela VI). As condições dos ensaios 4 e 6 favoreceram a produção de etanol, e a condição do ensaio 2 favoreceu a produção de xilitol.

Tabela VI. Resultados das análises de açúcares consumidos e da produção de etanol e xilitol do processo fermentativo conduzido com a levedura *Candida akabanensis* UFVJM R131 em meios contendo diferentes concentrações de ureia e sulfato de magnésio

Ensaio	Açúcares consumidos (g L^{-1})	Etanol (g L^{-1})	Xilitol (g L^{-1})
1	27,56	2,92	3,43
2	28,83	2,69	4,10
3	33,39	4,02	2,24
4	33,55	3,98	0,00
5X	14,27	1,53	1,40
6X	33,68	3,78	0,92
7X	32,68	4,11	3,85
8X	33,69	3,66	2,71
9C	31,13	4,32	4,63
10C	31,66	4,21	4,21
11C	32,97	3,55	3,23
12C	31,13	3,73	4,69
Controle	10,64	1,72	0,85

Fonte: Elaboração própria, 2024.

A maioria dos ensaios apresentou um resultado semelhante para o consumo de açúcar, com média de $31,66 \text{ g L}^{-1}$. Todavia, o ensaio Controle e o ensaio 5X apresentaram os menores valores de consumo de açúcar ($10,64 \text{ g L}^{-1}$ e $14,27 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente) e as menores produções de etanol e xilitol.

Os parâmetros fermentativos para o etanol foram apresentados na Tabela VII. O ensaio que apresentou o melhor rendimento e eficiência foi o Controle com valor de $0,16 \text{ g}_p \text{ g}_s^{-1}$ e $31,65\%$ respectivamente. No entanto, a produtividade volumétrica e o consumo de açúcar foram baixos, o que não é vantajoso economicamente para a indústria. Os segundos melhores valores para rendimento e eficiência foram observados no

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

ensaio 9C, com 0,14 $g_p g_s^{-1}$ e 27,00%, respectivamente. Houve uma diferença pequena dos valores obtidos no ensaio controle e àqueles obtidos no ensaio 9C, com o benefício de o último apresentar maior produtividade volumétrica e bom crescimento celular. Quando se observou a produtividade volumétrica, 5 ensaios (3, 4, 7X, 9C e 10C) apresentaram o maior valor, que foi de 0,06 $g L^{-1} h^{-1}$.

Tabela VII. Parâmetros fermentativos da *C. akabansensis* UFMG R131 em hidrolisado ácido contendo diferentes concentrações de ureia e sulfato de magnésio para o etanol

Ensaio	$Y_{p/s}$ ($g_p g_s^{-1}$)	Q_p ($g L^{-1} h^{-1}$)	E_{fx} (%)
1	0,11	0,04	20,76
2	0,09	0,04	18,26
3	0,12	0,06	23,55
4	0,12	0,06	23,22
5X	0,11	0,02	20,91
6X	0,11	0,05	21,95
7X	0,13	0,06	24,60
8X	0,11	0,05	21,27
9C	0,09	0,06	27,00
10C	0,12	0,06	26,04
11C	0,12	0,05	21,08
12C	0,11	0,05	23,48
Controle	0,16	0,02	31,65

Fonte: Elaboração própria, 2024.

$Y_{p/s}$ - Rendimento do etanol; Q_p - Produtividade volumétrica; E_{fx} - Eficiência fermentativa do etanol.

Os resultados obtidos para os parâmetros fermentativos do xilitol foram apresentados na Tabela VIII, sendo possível observar que o ensaio 12C teve melhor rendimento (0,15 $g_p g_s^{-1}$). Quando se analisa a produtividade volumétrica, o ensaio 12C apresentou o maior valor (0,07 $g L^{-1} h^{-1}$), seguido de 3 ensaios (2, 9C e 10C) que apresentaram valores de 0,06 $g L^{-1} h^{-1}$. Já para o parâmetro eficiência fermentativa, o ensaio que apresentou melhor resultado foi o 12C com eficiência de 14,80%.

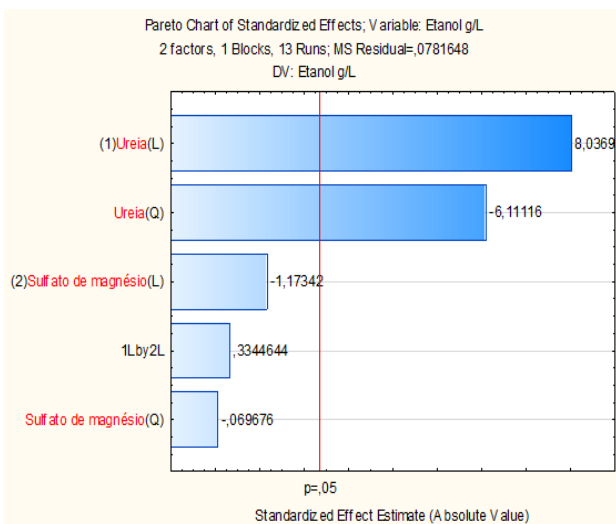
Tabela VIII. Parâmetros fermentativos da *C. akabansensis* UFMG R131 em meios contendo diferentes concentrações de ureia e sulfato de magnésio para o xilitol

Ensaio	$Y_{p/s}$ ($g_p g_s^{-1}$)	Q_p ($g L^{-1} h^{-1}$)	E_{fx} (%)
1	0,12	0,05	11,85
2	0,14	0,06	13,82
3	0,07	0,03	6,91
4	0,00	0,00	0,00
5X	0,10	0,02	9,87
6X	0,03	0,01	2,96
7X	0,12	0,05	11,85
8X	0,08	0,04	7,90
9C	0,14	0,06	13,82
10C	0,13	0,06	12,83
11C	0,10	0,04	9,87
12C	0,15	0,07	14,80
Controle	0,08	0,01	7,89

Fonte: Elaboração própria, 2024.

$Y_{p/s}$ - Rendimento do xilitol; Q_p - Produtividade volumétrica; E_{fx} - Eficiência fermentativa do xilitol.

A suplementação por ureia afetou significativamente a produção de etanol, conforme observado no gráfico de Pareto (Figura 3), uma vez que, os efeitos linear e quadrático ultrapassaram a linha vertical que corresponde ao nível de 95% de confiança. O efeito linear foi positivo, indicando que o aumento da concentração de ureia além das condições testadas afeta de forma diretamente proporcional na produção de etanol, enquanto o efeito quadrático foi negativo, indicando que foi alcançada uma condição ótima.

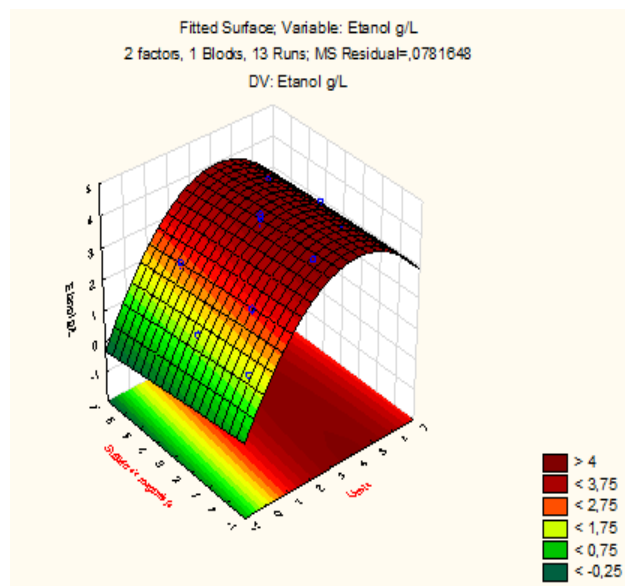


Fonte: Elaboração própria, 2024.

Figura 3. Gráfico de Pareto para os efeitos da suplementação, com diferentes concentrações de ureia e sulfato de magnésio, sobre a produção de etanol em processos fermentativos com hidrolisado de sorgo biomassa BRS 716 conduzido com a levedura *C. akabanensis* UFVJM-R131

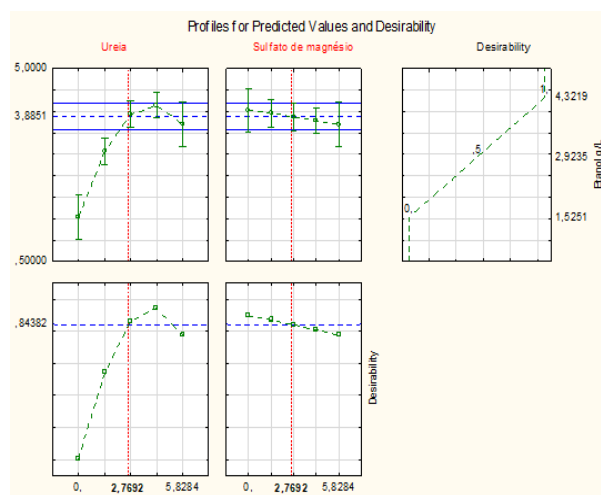
Na mesma figura 3 observou-se que não houve efeito linear e quadrático significativos da concentração de sulfato de magnésio no metabolismo celular do microrganismo para a produção de etanol.

O gráfico de superfície resposta para produção de etanol (Figura 4) mostra o efeito combinado da ação da ureia e do sulfato de magnésio. O aumento da concentração de ureia resultou em concentrações crescentes de etanol. Todavia, a partir do ápice da curvatura do gráfico as concentrações desse suplemento teriam um resultado desfavorável para a produção de etanol. O sulfato de magnésio, como já citado, não cooperou de forma significativa para o aumento da produção de etanol.



Fonte: Elaboração própria, 2024.

Figura 4. Gráfico de superfície resposta para o etanol em função da concentração de ureia e sulfato de magnésio, em processos fermentativos com hidrolisado de sorgo biomassa BRS 716 conduzido com a levedura *C. akabanensis* UFVJM-R131

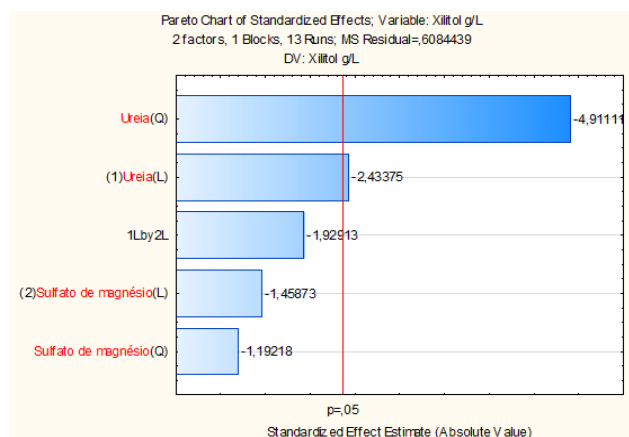


Fonte: Elaboração própria, 2024.

Figura 5. Gráfico de respostas previstas pelo modelo DCCR e os respectivos padrões de desejabilidade para a produção de etanol em processos fermentativos com hidrolisado de sorgo biomassa BRS 716 conduzido com a levedura *C. akabanensis* UFVJM R131

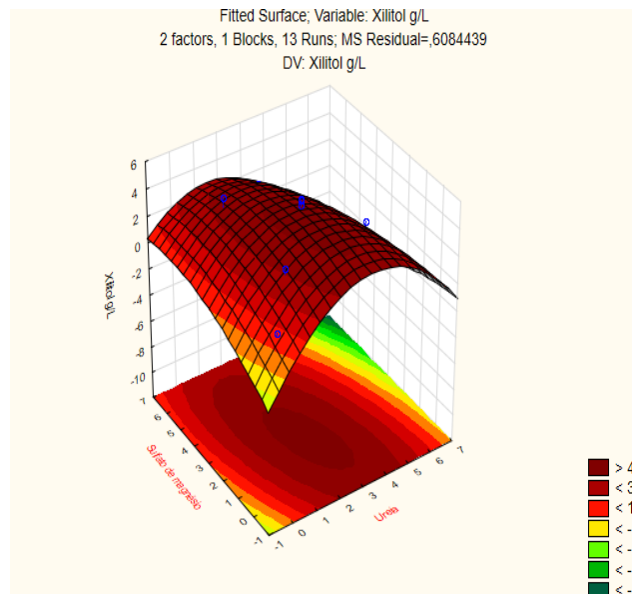
No gráfico de desejabilidade (Figura 5) foi observado que as concentrações ideais para a condução do processo a fim de gerar maior produção de etanol seriam de 2,769 g L⁻¹ tanto para a ureia quanto para o sulfato de magnésio. Portanto, a condição de melhor resultado se aproxima da condição do ponto central, que poderia ter as concentrações dos suplementos levemente reduzidas de 3g L⁻¹ para o valor predito.

Os resultados mostrados no gráfico de Pareto (Figura 6) revelam que houve efeito linear positivo da concentração de ureia sobre a produção de xilitol. Observou-se também que, assim como para a produção de etanol, não houve efeito significativo da concentração de sulfato de magnésio, indicando que esse nutriente não fez grande diferença no metabolismo celular do microrganismo para a produção de xilitol.



Fonte: Elaboração própria, 2024.

Figura 6. Gráfico de Pareto para os efeitos da suplementação sobre a produção de xilitol em processos fermentativos com hidrolisado de sorgo biomassa BRS 716 conduzido com a levedura *C. akabanensis* UFVJM R131

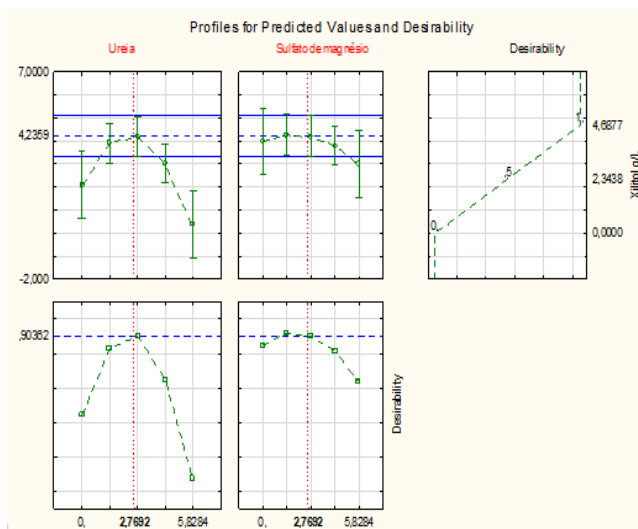


Fonte: Elaboração própria, 2024.

Figura 7. Gráfico de superfície resposta da produção de xilitol em função da concentração de ureia e sulfato de magnésio em processos fermentativos com hidrolisado de sorgo biomassa BRS 716 conduzido com a levedura *Candida akabanensis* UFVJM R131

A curva de superfície de resposta para os efeitos combinados das concentrações de ureia e sulfato de magnésio são vistos na Figura 7. A curvatura do gráfico denota um ponto de otimização para a influência da ureia.

As concentrações ideais para a condução do processo a fim de gerar maior produção de xilitol seriam de 2,769 g.L⁻¹ tanto para a ureia como para o sulfato de magnésio, conforme apresentado no gráfico de desejabilidade (Figura 8).



Fonte: Elaboração própria, 2024.

Figura 8. Gráfico de respostas previstas pelo modelo DCCR e os respectivos padrões de deseabilidade para a produção de xilitol em processos fermentativos com hidrolisado de sorgo biomassa BRS 716 conduzido com a levedura *C. akabanensis* UFVJM R131

Apesar de indicado no gráfico de deseabilidade (Figura 8) que o aumento da concentração de sulfato de magnésio até o valor de 2,769 g.L⁻¹ é benéfico para a produção do xilitol, este nutriente não tem significância no processo.

4 - Conclusões

Foi possível observar que a linhagem de *C. akabanensis* UFVJM R131 se beneficiou da suplementação do hidrolisado com ureia e sulfato de magnésio, quer para a produção de etanol, quer de xilitol.

O consumo de açúcar apresentou melhoria significativa com a suplementação utilizada, visto que os ensaios com menores concentrações de ureia apresentaram os menores valores para esse parâmetro.

Ficou demonstrado que concentrações de ureia próximas de 2,5 g L⁻¹ promoveram os melhores resultados nas condições dos ensaios, entretanto, tudo indica que a concentração ideal de sulfato de magnésio, embora necessário, deva

ser ajustada para valores maiores que zero e menores ou próximos a 0,17 g L⁻¹.

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); Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG; Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) e Programa de Pós – Graduação em Biocombustíveis – UFVJM/UFU; Instituto de Ciência e Tecnologia – ICT; Diretoria de Pesquisa - DIRPE da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - PRPPG.

6 - Referências

ALMODARES A, HADI MR, RANJBAR M, TAHERI R. 2007. The Effects of Nitrogen Treatments, Cultivars and Harvest Stages on Stalk Yield and Sugar Content in Sweet Sorghum. Asian Journal of Plant Sciences 6: 423-426.

BARRETO ES, FONSECA YA, ADARME OFH, SILVA DF, BRANDAO RL, BAETA BEL, GUIMARAES VM, GURGEL LVA. 2024. Optimization of 2G ethanol production from sugarcane bagasse: Upscaling of soda pretreatment with redox mediator followed by fed-batch enzymatic hydrolysis and co-fermentation. Energy Convers. Manag. 323: 119-225.

BERTHOLDO I, SUHETT AB. 2024. Uso de modelos animais com alto potencial de degradação de biomassa lignocelulósica para produção de etanol de segunda geração. Acta Scientiae et Technicae 12: 2317-8957.

DEESUTH O, LAOPAIBOON P, JAISIL P, LAOPAIBOON L. 2012. Optimization of

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

- Nitrogen and Metal Ions Supplementation for Very High Gravity Bioethanol Fermentation from Sweet Sorghum Juice Using an Orthogonal Array Design. *Energies* 5: 3178-3197.
- GENG P, ZHANG L, SHI, G. Y. Omics analysis of acetic acid tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *World J. Microbiol. Biotechnol* 33.
- HAHN-HÄGERDAL B, JEPPSSON H, OLSSON L, MOHAGEGI A. 1994. Uma comparação interlaboratorial do desempenho de microrganismos produtores de etanol em um hidrolisado ácido rico em xilose. *Aplicação Microbiol. Biotecnologia* 41: 62 - 72.
- KAUR S, GULERIA P, SIDANA A, YADAV SK. 2022. Efficient process for xylitol production from nitric acid pretreated rice straw derived pentosans by *Candida tropicalis* GS18. *Biomass and Bioenergy* 166: 106618.
- MAW MJW, HOUX III JH, FRITSCHI BF. 2024. Increased nitrogen fertilization of sweet sorghum drives increased uptake and removal of nine mineral nutrients in extracted juice and bagasse. *Ind. Crops Prod.* 222.
- OLADZAD S, FALLAH N, MAHBOUBI A, AFHAM N, TAHERZADEH MJ, TOGHYANI J. 2024. Comparison of acid and hydrothermal pretreatments of date waste for value creation. *Sci. Rep.*14(1): 18056.
- OKOPI S, LI Y, XU F. 2023. Biomass Digestion. *Elsevier EBooks*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-90386-8.00051-6>.
- PEREIRA SR, MUSSATTO IS, ROBERTO CI. 2011. Inhibitory action of toxic compounds present in lignocellulosic hydrolysates on xylose to xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38: 71–78.
- SILVA PV, PERES JR, SOUSA KHD. 2022. A Eficácia Do Xilitol Na Prevenção Da Cárie Dentária: Revisão De Literatura. *Facit Bus. Technol. J.* 2.
- TANG C, YANG X, CHEN X, AMEEN A, XIE G. 2018. Sorghum biomass and quality and soil nitrogen balance response to nitrogen rate on semiarid marginal land. *Field Crops Res.* 215: 12-22.
- TEW TL, COBILL RM, RICHARD EP. 2008. Evaluation of Sweet Sorghum and Sorghum × Sudangrass Hybrids as Feedstocks for Ethanol Production. *Bioenerg. Research.*1: 147–152.
- THANAPIMMETHAA AB, SAISRIYOOTTA BM, KHOMLAEMA BC, CHISTIC Y, SRINOPHAKUNA P. 2019. A comparison of methods of ethanol production from sweet sorghum bagasse. *Biochem. Eng. J.*151.
- UMAI D, KAYALVIZHI R, KUMAR V, JACÓ S. 2022. Xylitol: Bioproduction and Applications - A Review. *Front. Sustai.* 3: 826190.
- VALINHAS VR, PANTOJA LA, MAI ACF, MIGUEL MGCP, VANZELA APFC, NELSON DL, SANTOS AS. 2018. Xylose fermentation to ethanol by new *Galactomyces geotrichum* and *Candida akabanensis* strains. *PeerJ* 6: E4673.
- WANG FQ, GAO CJ, YANG CY, XU P. 2007. Optimization of an ethanol production medium in very high gravity fermentation. *Biotechnol. Lett.* 29: 233–236.
- WU Y, LI B, MIAO B, XIE M, TANG QY. 2022. *Saccharomyces cerevisiae* employs complex regulation strategies to tolerate low pH stress during ethanol production. *Microb. Cell. Fact.* 21: 247.

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

XUE C, ZHAO XQ, YUAN WJ, BAI FW. 2008. Improving ethanol tolerance of a self-flocculating yeast by optimization of medium composition .World. J. Microbiol. Biotechnol. 24: 2257-2261.

ZHAO XQ, XUE C, GE XM, YUAN WJ, WANG JY, BAI FW. 2009. Impact of zinc supplementation on the improvement of ethanol tolerance and yield of self-flocculating yeast in continuous ethanol fermentation. J. Biotechnol. 139: 55-60.