

Influência de Inibidores no Crescimento e Consumo de Substrato por Leveduras Fermentadoras de Pentose

Kauana Vitória Ricardo dos Santos^a, Bianca Lucena Oliveira^b, Raphael Ferreira Rocha^c, Rafaela Paula Carvalho Pontes^d, Filipe Soares de Freitas^e, Lílian Pantoja^f, Alexandre Soares dos Santos^g

^aEstudante de Engenharia Química da UFMG, nível graduação. E-mail: kauana.ricardo@ufvjm.edu.br

^bEstudante de Engenharia Mecânica da UFMG, nível graduação. E-mail: bianca.lucena@ufvjm.edu.br

^cEstudante de Ciência e Tecnologia da UFMG, nível graduação. E-mail: raphael.ferreira@ufvjm.edu.br

^{d,e} Estudante do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da UFMG, nível doutorado. E-mail: rafaela.pontes@ufvjm.edu.br
E-mail: filipe.soares@ufvjm.edu.br

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

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

Resumo: A estrutura complexa da biomassa lignocelulósica exige um pré-tratamento para liberar carboidratos, podendo gerar compostos tóxicos que afetam a fermentação. Neste sentido, foi analisado o comportamento das leveduras *Galactomyces geotrichum*, *Candida akabanensis* e *Candida orthopsilosis*, que fermentam glicose e xilose para produção de etanol, quanto ao seu comportamento frente aos inibidores ácido acético e furfural. O furfural não afetou a *C. akabanensis*, todavia, afetou o crescimento da linhagem *G. geotrichum* e o consumo de xilose da *C. orthopsilosis*. O ácido acético não afetou *G. geotrichum* e *C. akabanensis*, mas reduziu o crescimento e consumo de xilose da linhagem *C. orthopsilosis*. Os resultados obtidos auxiliam no avanço de novas pesquisas e ampliam a compreensão sobre a influência do ácido acético e do furfural na produção de etanol por esses micro-organismos.

1 - Introdução

A busca por alternativas que minimizem os impactos ambientais causados pelos gases de efeito estufa e a escassez de fontes fósseis de energia tem impulsionado o estudo de novos recursos energéticos sustentáveis, como o bioetanol de segunda geração (Holmatov *et al.*, 2021). Esse biocombustível é produzido a partir matéria-prima lignocelulósica proveniente de culturas energéticas, resíduos e rejeitos agroindustriais (Silva *et al.*, 2020).

A biomassa lignocelulósica é composta por uma estrutura complexa de polímeros, incluindo carboidratos, proteínas, sais minerais e compostos fenólicos. Sendo assim, o acesso dos

micro-organismos aos carboidratos presentes nessa biomassa é limitado (Nandal; Sharma; Arora, 2020). O acesso aos carboidratos é facilitado por um pré-tratamento, o qual possibilita maior acessibilidade aos açúcares fermentáveis (Yoo *et al.*, 2020; Almeida; Nascimento, 2021). Contudo, alguns métodos de pré-tratamento podem gerar compostos químicos inibidores da fermentação, que interferem no metabolismo microbiano e causam efeitos citotóxicos (Sjulander; He *et al.*, 2020).

Os compostos tóxicos para as células microbianas são classificados em três principais grupos: derivados furânicos, ácidos alifáticos e compostos fenólicos. Os furanos, como furfural e 5-hidroximetilfurfural, juntamente com o ácido

acético, podem inibir o crescimento das leveduras e reduzir tanto o rendimento quanto a produtividade da fermentação etanólica, pois afetam a integridade da membrana celular e prejudicam o metabolismo intracelular, especialmente ao interferir na atividade enzimática da via glicolítica (Van Der Pol *et al.*, 2014).

A *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais utilizada na indústria de etanol devido ao seu bom desempenho fermentativo e alta tolerância a compostos inibidores. No entanto, essa espécie não possui a capacidade de converter açúcares de cinco carbonos em etanol (Nandal; Sharma; Arora, 2020). Uma alternativa para o aproveitamento integral desses açúcares é a busca por linhagens de micro-organismos capazes de fermentar tanto hexoses quanto pentoses (Le *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019).

Diante desse cenário, o presente estudo investigou o comportamento das linhagens de leveduras *Galactomyces geotrichum* Ufvjm-R10, *Candida akabanensis* Ufvjm-R131 e *Candida orthopsilosis* Ufvjm-4G em fermentação de meio sintético. Esse meio foi suplementado com compostos inibidores, como ácido acético e furfural, simulando o ambiente fermentativo resultante da hidrólise da biomassa lignocelulósica, que apresenta uma composição química complexa.

2 - Material e Métodos

As etapas experimentais do presente estudo foram executadas nos seguintes laboratórios: Laboratório de Bioprocessos e Biotransformação (LabBio), Laboratório de Pré-tratamento e caracterização de Biomassas Energéticas e Laboratório de Microbiologia para Biocombustíveis (LabMBio) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), localizado no Campus JK, Diamantina-MG.

O estudo foi realizado seguindo 4 etapas: 1) Reativação e autenticação dos micro-organismos; 2) Preparo do inóculo; 3) Fermentação em meio sintético elaborado com diferentes concentrações de inibidores; 4) Análise dos resultados considerando o crescimento celular e consumo de açúcares.

Reativação dos Micro-organismos

As leveduras *Candida orthopsilosis* Ufvjm 4G, *Galactomyces geotrichum* Ufvjm-R10 e *Candida akabanensis* Ufvjm-R131, isoladas do arroz doce, inhame, bagaço de cana-de-açúcar respectivamente (Barbosa, 2017), estão registradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob número de cadastro A18446E.

As linhagens estavam conservadas em microtubo de Eppendorf, contendo meio líquido YPMD (Yeast extract-Malt-Peptide-Dextrose) e acrescido de 10% de glicerol (v/v). A reativação foi realizada através da técnica de estria simples em meio ágar YPMD, o qual foi posteriormente incubado por 48h, à 28°C.

Preparo dos inóculos

Os inóculos foram preparados por meio da transferência de uma alçada (loop de 10 uL) das culturas reativadas (culturas únicas) para frascos tipo Erlenmeyer de 125 mL contendo 50 mL de meio líquido YPMD, os quais foram submetidos à agitação de 150 rpm. Os crescimentos foram monitorados pelo grau de turbidez (densidade óptica) e, quando estes atingiram 1,0 D.O. Observados os crescimentos a 1,0 D.O, proporções de 10% dos meios de cultura foram recolhidas e centrifugadas a 10000 rpm por 10 minutos. Os sobrenadantes foram descartados e os pellets restantes foram lavados com água destilada estéril três vezes e, posteriormente, ressuspensos nos meios fermentativos.

Fermentação em meio YPMX

Os efeitos dos inibidores, furfural e ácido acético sobre as linhagens *Galactomyces geotrichum* UFVJM-R10 e *Candida akabanensis* UFVJM-R131 foram avaliados utilizando meio fermentativo líquido de 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), os quais foram adicionadas diferentes concentrações do ácido acético (1,0; 2,0 e 3,0 g L⁻¹) e furfural (0,10; 0,15 e 0,20 g L⁻¹). Um meio fermentativo sem a presença de inibidores foi preparado para ser utilizado como controle. Os experimentos foram realizados em triplicatas, por fermentação em sistema de batelada simples, com frascos tipo Erlenmeyer de 50 mL contendo 30 mL de meio fermentativo, os quais foram submetidos a agitação de 150 rpm em estufa tipo orbital-shaker a 28°C.

Fermentação no meio Oliveira 2010

Os efeitos dos inibidores, furfural e ácido acético sobre a linhagem *Candida orthopsilosis* UFVJM 4G foram avaliados utilizando meio fermentativo descrito por Oliveira (2010), o qual foram adicionadas diferentes concentrações do ácido acético (1,0; 2,0 e 3,0 g L⁻¹) e furfural (0,10; 0,15 e 0,20 g L⁻¹). Um meio fermentativo sem a presença de inibidores foi preparado para ser utilizado como controle. O experimento foi realizado em triplicatas, e conduzido nas mesmas condições descritas no item anterior.

Monitoramento dos bioprocessos

Os processos fermentativos foram monitorados por diferentes tempos. A cada 12 horas foram retiradas alíquotas de 0,5 mL de amostras, as quais foram adicionadas 0,5 mL de água destilada estéril. Em seguida, as misturas foram centrifugadas a 10000 rpm por 10 minutos. Os *pellets* oriundos da centrifugação foram ressuspensos em 2,0 mL de água destilada estéril para quantificação da biomassa por leitura de densidade óptica a 610 nm e contagem em câmara de Neubauer para determinação da viabilidade celular. Os sobrenadantes foram

reservados para a quantificação das concentrações de açúcar, furfural e ácido acético.

3 - Resultados e Discussão

Crescimento celular e consumo de açúcar

Nas Figuras 1 a 12, encontram-se os gráficos com o perfil de crescimento celular e o consumo da xilose pelas linhagens de levedura *Galactomyces geotrichum* UFVJM-R10, *Candida akabanensis* UFVJM-R131 e *Candida orthopsilosis* UFVJM-4G em meios de fermentação com e sem suplementação de ácido acético e furfural em diferentes concentrações.

Galactomyces geotrichum UFVJM-R10

A partir da Figura 2 é possível observar que, a adição de ácido acético no meio fermentativo YPMX afetou o perfil de crescimento da linhagem de levedura *G. geotrichum* UFVJM R10. As variações de crescimento quanto ao grau de turbidez após 48 horas de processo foram de 6,597 no meio fermentativo controle (sem ácido acético), 6,360 no meio contendo 1 g L⁻¹ de ácido acético, 5,825 no meio contendo 2 g L⁻¹ de ácido acético e de 5,103 na fermentação conduzida em meio contendo 3 g L⁻¹ de ácido acético. Logo é possível perceber que quanto maior as concentrações do inibidor no meio fermentativo, menores foram as variações de crescimento celular.

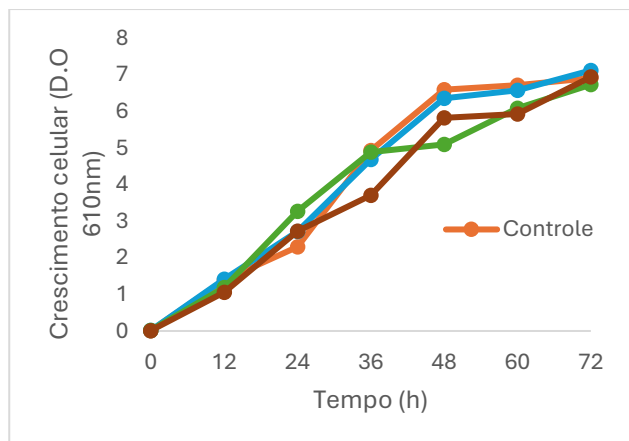


Figura 1: Perfil de crescimento celular da linhagem *Galactomyces geotrichum* UFVJM-R10 em meio (YPMX) suplementado com diferentes concentrações de ácido acético.

Quanto ao consumo de xilose (Figura 2), foi possível observar que as variações nas concentrações desta pentose após 48 horas, foram diferentes, sendo uma variação de 8,784 g L⁻¹ para o meio controle; 9,714 g L⁻¹ para o meio contendo 1g L⁻¹ de ácido acético, enquanto para os meios contendo 2 e 3 g L⁻¹ de ácido acético, as variações no consumo de xilose foram de 10,353 g L⁻¹ e 9,602 g L⁻¹ respectivamente. Avaliando as diferentes variações, não foi possível observar interferência das diferentes concentrações de ácido acético no consumo de xilose pela linhagem *G. geotrichum* UFVJM-R10.

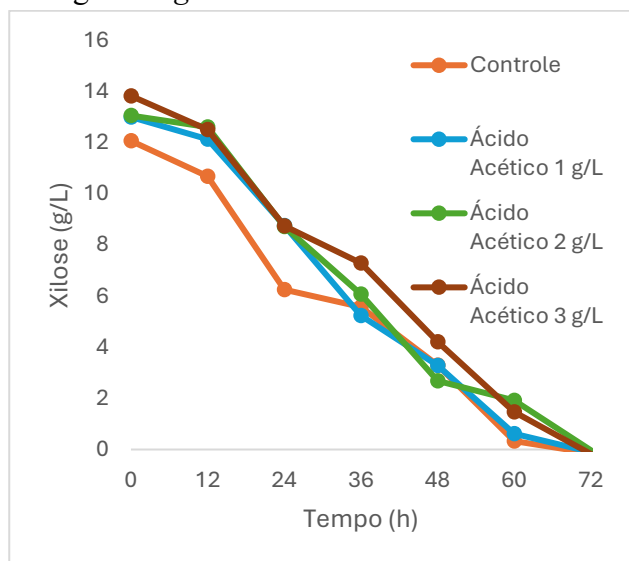


Figura 2: Perfil de consumo de xilose da linhagem *Galactomyces geotrichum* UFVJM-

R10 em meio (YPMX) suplementado de diferentes concentrações de ácido acético.

Ao comparar o crescimento celular da levedura *G. geotrichum* UFVJM-R10 em meios com e sem a presença de furfural, observou-se menores variações de crescimento nos meios contendo furfural, quando comparado ao meio controle (Figura 3). Esse fato também foi observado por Matos (2017) em seu estudo com esta linhagem em fermentação com meio hidrolisado de semente de girassol, o qual continha 0,05 g L⁻¹ de furfural. A variação de crescimento no meio controle após 48 horas de bioprocessamento foi de 6,597 D.O, enquanto para os meios contendo 0,10; 0,15 e 0,20 g L⁻¹ de furfural foram de 5,609; 4,871 e 5,729 D.O, respectivamente. Todavia, ao observar que embora o composto furano tenha afetado o crescimento celular, as variações de crescimento não foram diretamente proporcionais as concentrações deste inibidor.

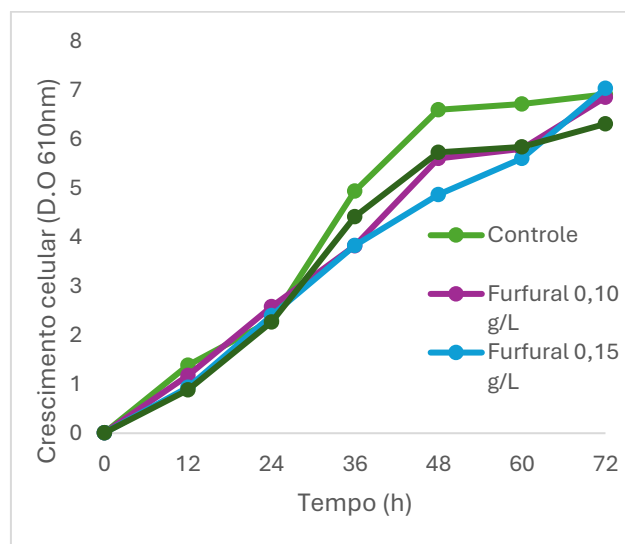


Figura 3: Perfil de crescimento celular da linhagem *Galactomyces geotrichum* (UFVJM-R10) em meio (YPMX) suplementado com diferentes concentrações de furfural.

Quanto aos perfis de consumo de xilose em meio com e sem a presença de furfural, as

variações após 48 horas foram de 8,752 g L⁻¹ em meio controle, enquanto nos meios com adição de 0,10; 0,15 e 0,20 g L⁻¹ de furfural, as variações foram de 8,047 g L⁻¹; 8,655 g L⁻¹ e 9,173 g L⁻¹ respectivamente. Foi possível observar que, embora houvesse maior concentração desse inibidor, a maior variação no consumo de xilose, indica que a levedura *G. geotrichum* não foi afetada quando em processo conduzido com meio fermentativo com concentração de até 0,20 g L⁻¹.

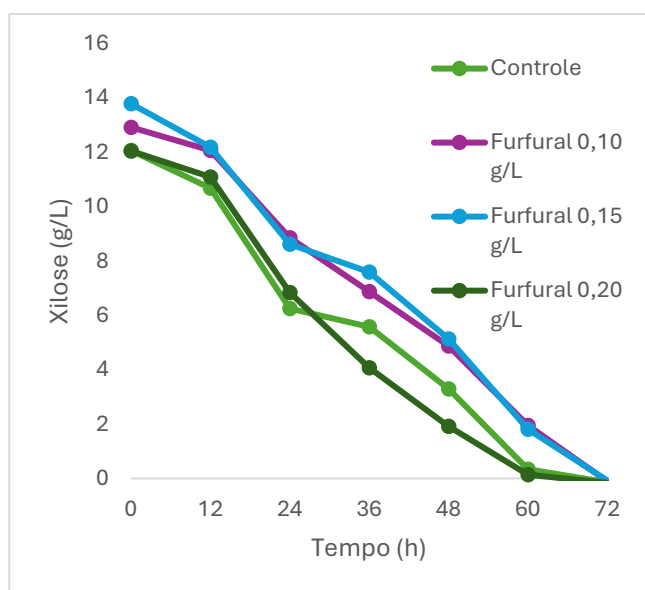


Figura 4: Perfil de consumo de xilose da linhagem *Galactomyces geotrichum* UFVJM-R10 em meio (YPMX) suplementado de diferentes concentrações de furfural.

Candida akabanensis UFVJM-R131

O perfil de crescimento celular da linhagem *C. akabanensis* UFVJM-R131 observado na Figura 6, mostrou que o micro-organismo aparentemente não foi afetado pelas concentrações de ácido acético presentes no meio fermentativo. Após 48 horas de fermentação, foi observado uma variação de crescimento de 3,683 D.O no meio controle, enquanto para as fermentações contendo 1, 2 e 3 g L⁻¹ de ácido acético, as variações foram de 3,724; 3,641 e 3,800 D.O, respectivamente. Em estudo anterior realizado por Rocha *et al.* (2023), conduzindo

processos fermentativos com essa mesma linhagem de levedura, em meios adicionados de concentrações de ácido acético, variando de 0 a 10 g L⁻¹, foi observado que a mesma não teve o seu crescimento afetado.

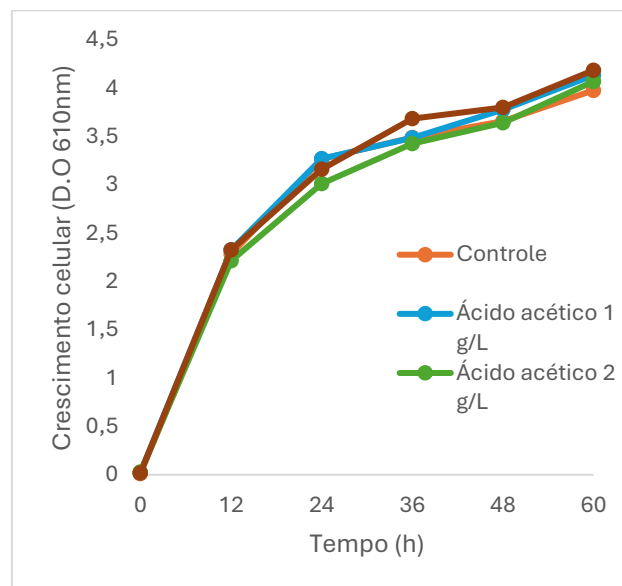


Figura 5: Perfil de crescimento celular da linhagem *Candida akabanensis* UFVJM-R131 em meio (YPMX) suplementado de diferentes concentrações de ácido acético.

Os resultados permitiram observar ainda que, a presença do ácido acético, em todas as concentrações testadas, não afetou o consumo de xilose, conforme a Figura 6. A variação do consumo de xilose no meio controle, após 48 horas foi de 12,489 g L⁻¹, enquanto nos meios adicionados de 1, 2 e 3 g L⁻¹ de ácido acético, as variações foram de 13,708; 12,102 e 13,572 g L⁻¹, respectivamente. Ndukwe *et al.* (2020) apontaram que existe uma possibilidade de o ácido acético reduzir o fluxo de carbono na via das pentoses fosfato, no entanto, esse fenômeno não pôde ser observado, conforme os resultados encontrados neste estudo.

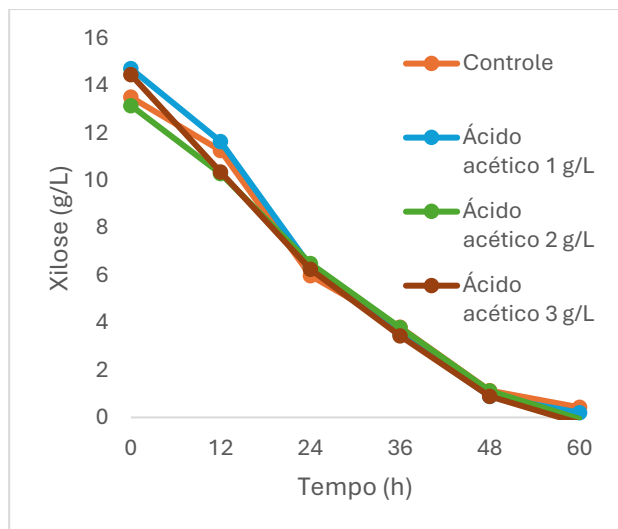


Figura 6: Perfil de consumo de xilose da linhagem *Candida akabanensis* UFVJM- R131 em meio (YPMX) suplementado de diferentes concentrações de ácido acético.

Na Figura 7, encontram-se os perfis de crescimento celular da linhagem de *C. akabanensis* UFVJM R-131, em meios fermentativos contendo diferentes concentrações de furfural. Foi possível observar que, os perfis de crescimento foram semelhantes em todas as condições testadas, sendo que a variação de crescimento nas primeiras 48 horas de fermentação foi de 3,903 D.O, no processo conduzido no meio controle, enquanto que nos meios adicionados de 0,10; 0,15 e 0,20 g L⁻¹ de furfural, os crescimentos atingiram 3,698; 3,642 e 3,817 D.O, respectivamente.

Em estudo realizado por Pereira *et al.* (2023), onde foram testadas concentrações de 0 a 0,5 g L⁻¹ de furfural, em processo conduzido com esta mesma linhagem de levedura, foi observado que, as concentrações de furfural presentes no meio de fermentação estenderam a fase de latência do crescimento microbiano.

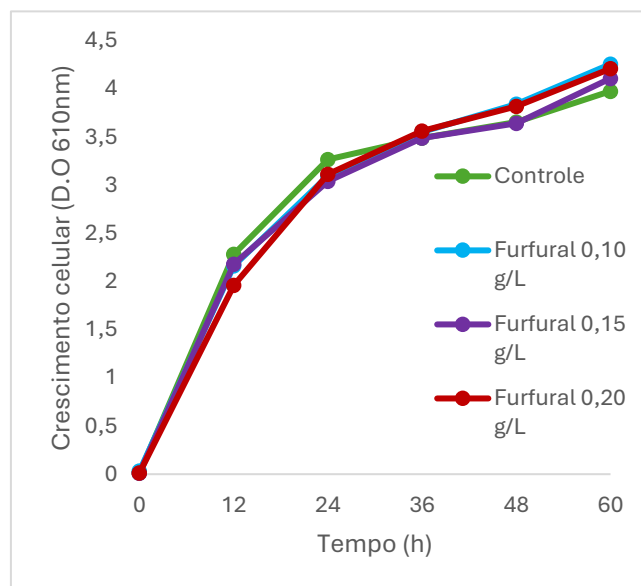


Figura 7: Perfil de crescimento celular da linhagem *Candida akabanensis* UFVJM-R131 em meio (YPMX) suplementado de diferentes concentrações de furfural.

Quanto ao consumo de xilose (Figura 8), foi observado que a presença do furfural em diferentes concentrações não afetou negativamente a assimilação da pentose, sendo que, após 48 horas de bioprocessamento, as variações de consumo da xilose pela *C. akabanensis* UFVJM-R131 foi de 12,830 g L⁻¹ no meio controle, enquanto nos meios adicionados de 0,01; 0,15 e 0,20 g L⁻¹ de furfural, as variações foram de 15,036; 13,909 e 14,045 g L⁻¹, respectivamente. De acordo com Bellido *et al.* (2011), o furfural pode impactar o consumo de substratos, no entanto, esse fenômeno não foi observado, para esta linhagem de levedura (*C. akabanensis* URFVJM-R131), nas condições aqui estudadas.

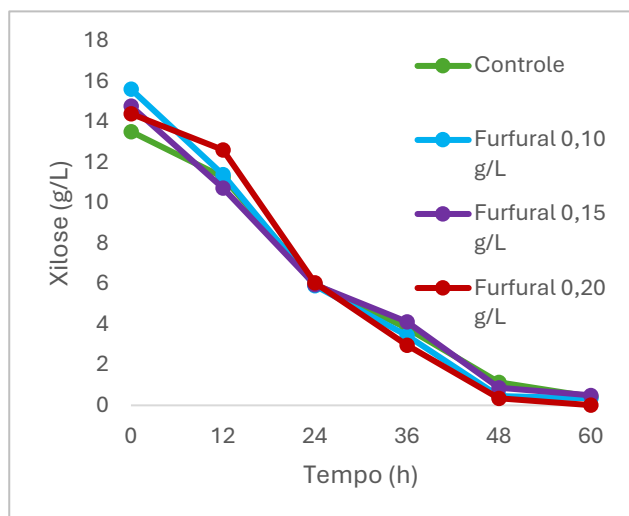


Figura 8: Consumo de xilose da linhagem *Candida akabanensis* UFVJM- R131 em meio (YPMX) suplementado de diferentes concentrações de furfural.

Candida orthopsilosis UFVJM-4G

Os perfis de crescimento da linhagem de levedura *Candida orthopsilosis* UFVJM-R131, são mostrados na Figura 9. As diferentes concentrações de ácido acético testadas afetaram negativamente o crescimento da levedura, sendo observado que, as concentrações de 2 e 3 g L⁻¹ prolongaram a fase de latência do crescimento celular. As variações no crescimento da levedura, após 48 horas de fermentação, foram de 4,472 D.O, em meio controle e 4,301 D.O no meio contendo 1 g L⁻¹ do inibidor. Nos ensaios conduzidos com meio adicionado de 2 e 3 g L⁻¹ de ácido acético, as variações de crescimento foi de 2,284 e 0,053 D.O, respectivamente. O crescimento mais significativo para o meio contendo 2 g L⁻¹ de ácido acético ocorreu somente a partir de 24 horas, para o meio contendo 3 g L⁻¹ de ácido acético, o crescimento se iniciou a partir de 60 horas de fermentação.

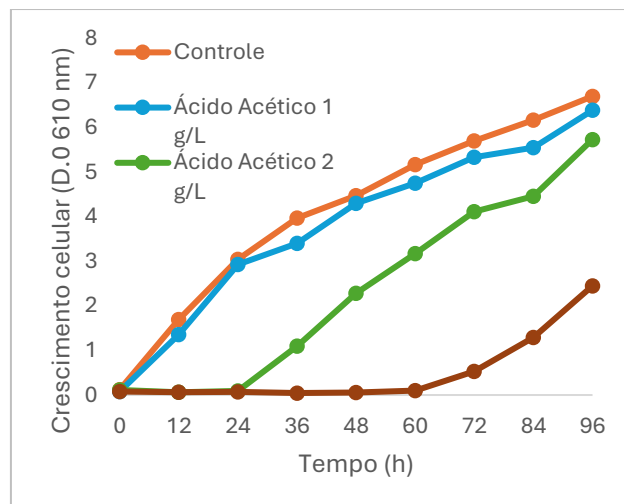


Figura 9: Perfil de crescimento celular da linhagem *Candida orthopsilosis* UFVJM-4G em meio OLIVEIRA (2010) suplementado de diferentes concentrações de ácido acético.

Quanto aos perfis de consumo de xilose (Figura 10), na fermentação com meio controle (sem a presença de inibidor), a variação no consumo do carboidrato, após 48 horas, foi de 23,677 g L⁻¹, para o meio contendo 1g L⁻¹ de ácido acético a variação foi de 11,157 g L⁻¹. No processo conduzido com meio adicionado de 2 g L⁻¹ de acético, o consumo de xilose, foi observado com maior clareza, a partir de 60 horas de fermentação. Todavia, no processo conduzido com meio adicionado de 3 g L⁻¹ de ácido acético, não foi observado o consumo de xilose.

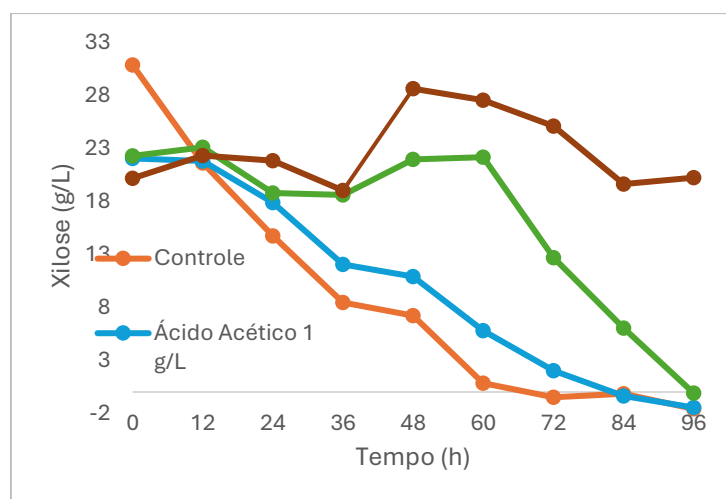


Figura 10: Perfil de consumo de xilose da linhagem *Candida orthopsilosis* UFVJM-4G em meio OLIVEIRA (2010) suplementado de diferentes concentrações de ácido acético.

Na Figura 11, são observados os perfis de crescimento celular da *C. orthopsilosis* UFVJM-4G em meio fermentativo com adição de furfural. A variação do crescimento celular no meio controle, após 48 horas, foi de 4,472 D.O, enquanto que para os meios contendo concentrações de 0,10; 0,15 e 0,20 g L⁻¹ de furfural, as variações de crescimentos foram de 4,177; 4,286 e 4,300 D.O, respectivamente. Logo, não possível identificar aparente interferência do furfural no crescimento da linhagem de levedura estudada.

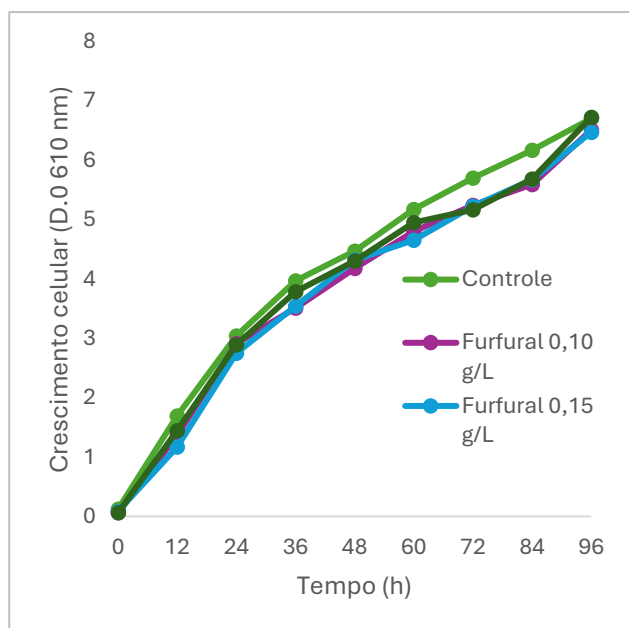


Figura 11: Perfil de crescimento celular da linhagem *Candida orthopsilosis* UFVJM-4G em meio OLIVEIRA (2010) suplementado de diferentes concentrações de furfural.

Do mesmo modo, quanto aos perfis de consumo de xilose, foi possível observar, conforme mostrado na Figura 12, que, o furfural não apresentou aparente efeito sobre o consumo de xilose, pois, embora, no início da fermentação com meio controle mostre uma maior variação no

consumo do açúcar, a concentração inicial observada apresenta um valor de desvio que excede as concentrações observadas nas outras condições de fermentação. Nas fermentações conduzidas em meios adicionados com 0,10; 0,15 3 0,20 g L⁻¹ de furfural, as variações no consumo de xilose, após 48 horas der fermentação, foram de 12,547; 12,539 e 12,028 g L⁻¹, respectivamente.

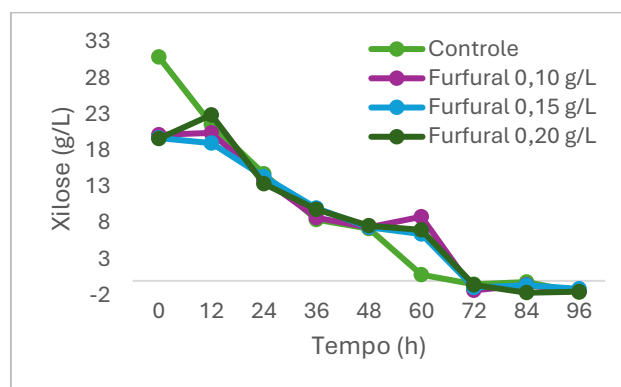


Figura 12: Consumo de xilose da linhagem *Candida orthopsilosis* UFVJM-4G em meio OLIVEIRA (2010) suplementado de diferentes concentrações de furfural.

4 - Conclusões

As condições de fermentação testadas neste estudo permitiram concluir que o furfural afetou o crescimento celular da linhagem *Galactomyces geotrichum* UFVJM-R10, enquanto, para *Candida orthopsilosis* UFVJM-4G, observou-se um impacto no consumo de xilose. Já para a linhagem *Candida akabanensis* UFVJM-R131, o furfural não interferiu nem no crescimento celular nem no consumo de xilose.

Em relação ao ácido acético, não foram identificados efeitos negativos sobre os perfis de crescimento ou consumo de carboidratos nas linhagens *Galactomyces geotrichum* UFVJM-R10 e *Candida akabanensis* UFVJM-R131. No entanto, para *Candida orthopsilosis* UFVJM-4G, ambos os parâmetros testados (crescimento e consumo de xilose) foram afetados pelas

concentrações desse composto nos meios fermentativos.

Este estudo trouxe informações relevantes sobre o comportamento das linhagens *Galactomyces geotrichum* UFVJM-R10, *Candida orthopsilosis* UFVJM-4G e *Candida akabanensis* UFVJM-R131 na presença de compostos inibidores. Os resultados obtidos auxiliam no avanço de novas pesquisas e ampliam a compreensão sobre a influência do ácido acético e do furfural na produção de etanol por esses micro-organismos.

5 - Agradecimentos

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

6 - Referências

- ALMEIDA, de S. C.; NASCIMENTO, D. D. Revisão: leveduras utilizadas na produção de etanol de segunda geração. *Bioenergia em revista: diálogos*, v.11, n.1, p. 99-119, jan/jun. 2021.
- BELLIDO, Carolina; BOLADO, Silvia; COCA, Mônica; et al. Effect of inhibitors formed during wheat straw pretreatment on ethanol fermentation by *Pichia stipitis*. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 23, p. 10868–10874, 2011.
- HE, J. et al. The effect of lignin degradation products on the generation of pseudo-lignin during dilute acid pretreatment. *Industrial Crops & Products*, v. 146, n. 112205, p. 1–8, 2020.
- HOLMATOV, B. et al. Os resíduos da colheita podem fornecer combustível para o transporte futuro? Potenciais limitados de resíduo global de bioetanol e grandes pegadas terrestres, hídricas e de carbono associadas. *Avaliações de energia renovável e sustentável*. v. 149, n. 111417, p. 1-15, 26 junho 2021.
- MATOS, J. P., SOUZA, K., SANTOS, A. S., PANTOJA, L. A. Fermentação alcoólica de hidrolisado hemicelulósico de torta de girassol por *Galactomyces geotrichum* UFVJM R10 e *Candida akabanensis* UFVJM-R131. *Química Nova*, 41, 23-29, 2018.
- NDUKWE J. K.; GODWIN O. A, CHUKWUDI O. O. Mechanisms of weak acid-induced stress tolerance in yeasts: Prospects for improved bioethanol production from lignocellulosic biomass *Process Biochemistry*, v. 90, p. 118-130, março 2020.
- PEREIRA, N. O. et al. Efeito do furfural na produção de xilitol e etanol pela levedura *Candida akabanensis* ufvjm R131. Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia. Diamantina, Minas Gerais, 2023.
- ROCHA, F. et al. Efeito do ácido acético na produção de etanol pela levedura *Candida akabanensis* ufvjm R131. Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia, Diamantina, Minas Gerais, 2023.
- VAN DER POL, E. C., BAKKER, R. R., BAETS, P., & EGGINK, G. By-products resulting from lignocellulose pretreatment and their inhibitory effect on fermentations for (bio) chemicals and fuels. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 98, n. 23, p. 9579- , 2014.
- WANG, L. et al. Simultaneous fermentation of biomass-derived sugars to ethanol by a coculture of an engineered *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*, v. 273, n. November 2018, p. 269–276, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852418315360?via%3Dihub>>.
- YOO, C. G. et al. The critical role of lignin in lignocellulosic biomass conversion and recent pretreatment strategies: A comprehensive review. *Bioresource Technology*, v. 301, n. 122784, 2020.