

Crescimento e consumo de Xilose de *Candida guilliermondii* na fermentação submersa utilizando-se bagaço de cana-de-açúcar

Mário César Jucoski Bier*
Leila Teresinha Maranhão**
Jayme Augusto Menegassi Azevedo***
Luiz Severo Da Silva Junior****

Resumo

O xilitol tem se mostrado um produto de grande valor comercial para a indústria alimentícia, farmacêutica e odontológica, em virtude de suas características benéficas, como sua doçura e a prevenção de cáries, simultaneamente a que é indicado para obesos e tolerado por diabéticos. O xilitol pode ser obtido pelas vias químicas e biotecnológicas. Segundo a literatura, a produção química do xilitol envolve um processo dispendioso, pouco produtivo, em resposta ao processo de purificação. A via biotecnológica, por sua vez, tem-se tornado uma excelente alternativa para sua produção, empregando-se processos fermentativos realizados por microrganismos. Neste trabalho foi estudada a utilização da via biotecnológica, utilizando-se a levedura *Candida guilliermondii* e bagaço de cana-de-açúcar como substrato, um resíduo agroindustrial de baixo custo empregado para fermentação da xilose. Realizaram-se ensaios em duplicata, onde foi testada a capacidade fermentativa de três cepas de *C. guilliermondii* nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas. Inicialmente, foi realizada hidrólise ácida para conversão da xilana em xilose. Utilizou-se, em seguida, carvão ativado para purificação do hidrolisado e suplementação do meio de fermentação com sulfato de amônio e farelo de arroz. O processo fermentativo ocorreu em misturador shaker a 150rpm e temperatura de 30 °C. O estudo teve como objetivo estimar por meio do crescimento das leveduras e o consumo de xilose os melhores parâmetros para produção do xilitol. Entre as cepas utilizadas a de melhor resultado foi a LBP018, onde se obteve a maior quantidade de biomassa e consumo de xilose.

Palavras-chave: Xilitol. Fermentação. Processo biotecnológico.

* Acadêmico do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Positivo.

** Doutora em conservação da natureza pela Universidade Federal do Paraná; professora do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Positivo.

*** Professor do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Positivo; Rua Prof. Pedro Viriato Parigot de Souza, 5300, Campo Comprido, Curitiba, PR, 81280-330; jayme.azevedo@up.edu.br

**** Professor Doutor em Ciência dos Alimentos – Núcleo de Biotecnologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina *Campus* de Videira, SC; severo@unoescvda.edu.br

1 INTRODUÇÃO

Materiais lignocelulósicos são fontes abundantes de compostos orgânicos, apresentando grande potencial de uso como matéria-prima em processos industriais para a produção de alimentos, combustíveis, insumos químicos, enzimas e bens de consumo diversos (KRISHNA; REDDY; CHOWDARY, 2001). No Brasil, um dos resíduos lignocelulósicos mais abundantes é o bagaço de cana-de-açúcar; grande parte deste é utilizada pela própria indústria como fonte de energia. Há, entretanto, um grande excedente desse material, o que motiva pesquisas visando ao seu aproveitamento. Uma potencial alternativa seria o emprego do bagaço de cana-de-açúcar como matéria-prima para a produção de xilitol (SILVA et al., 1997).

A cana-de-açúcar é cultivada em mais de cem países. Entre as culturas comerciais é a que conseguiu desenvolver mais eficientemente o mecanismo da fotossíntese, o qual lhe permite fixar a energia solar e transformá-la em massa verde, composta fundamentalmente de diferentes açúcares e substâncias lignocelulósicas. Essa elevada capacidade fotossintética determina também maior coeficiente de absorção de CO₂ atmosférico, superior ao das florestas de zonas temperadas, o que contribui para atenuar o efeito estufa (MANUAL..., 1999).

O bagaço de cana-de-açúcar é um abundante resíduo agroindustrial; apresenta em sua composição 50% de celulose, 25% de hemicelulose e 25% de lignina (PANDEY et al., 2000). O ácido sulfúrico diluído tem sido utilizado para a hidrólise do bagaço, liberando em torno de 83% da xilose complexada na fração hemicelulósica da fibra vegetal (PESSOA JUNIOR; MANCILHA; SATO, 1997).

O xilano é o componente principal da fração de hemicelulose de madeiras duras e dos resíduos agroindustriais; é formado por unidades de xilose e pode ser hidrolisado nesse açúcar pela ação de ácidos. O resíduo sólido resultante da hidrólise ácida contém tanto frações de lignina quanto de celulose que podem ser separadas e utilizadas de maneiras diversas. A fase líquida resultante da hidrólise ácida pode ser utilizada para realizar a fermentação para produção de xilitol (PARAJÓ; DOMINGUEZ; DOMINGUEZ, 1998).

As hemiceluloses são heteropolímeros de pentoses e hexoses e correspondem de 10 a 40% da matéria seca dos resíduos lignocelulósicos. Essa fração pode ser convertida em açúcares monoméricos, principalmente xilose, em temperaturas abaixo de 200 °C na presença de ácidos diluídos (NEUREITER et al., 2002).

O xilitol é um poliol com propriedades físico-químicas importantes às indústrias alimentícias e farmacêuticas. A produção de xilitol por fermentação poderá ser uma alternativa ao processo convencional de obtenção desse adoçante em razão da descoberta de leveduras com alta capacidade de fermentação de xilose (FELIPE et al., 2003).

Pesquisas indicam que o xilitol apresenta uma característica peculiar de não fermentação pela maioria das bactérias presentes na cavidade bucal, tornando a placa dentária menos aderente e de fácil remoção à escovação, podendo ainda atuar como agente de remineralização do esmalte dentário. O xilitol não apresenta uma toxicidade que represente risco à saúde humana (ELIAS; PINZAN; BASTOS, 2006).

A fermentação é um processo anaeróbico alternativo utilizado por algumas espécies de microrganismos. Nesse processo, os substratos que podem ser fermentados, assim como os produtos finais dependem da espécie microbiana. Os açúcares são excelentes substratos fermentáveis, pois produzem intermediários que podem ser reduzidos (HARVEY; CHAMPE; FISHER, 2008). O composto reduzido resultante geralmente é eliminado para o meio externo da célula (TRABULSI et al., 1999).

Em virtude da capacidade de microrganismos fermentarem a xilose presente nos hidrolisados, surgiu a via biotecnológica de produção do xilitol; trata-se de uma alternativa ao processo convencional

de obtenção desse adoçante; nesse processo não são necessárias extensivas etapas de purificação dessa pentose como na via química (FELIPE et al., 2003).

O metabolismo de xilose em leveduras consiste em sua redução a xilitol por intermédio da enzima xilose redutase que requer como cofator o NADPH + H⁺, seguida da oxidação à xilulose pela enzima xilitol desidrogenase que requer como cofator o NAD (FELIPE et al., 2003). Quanto às leveduras, várias espécies foram identificadas como produtoras de xilitol, destacando-se as do gênero *Candida*, pela maior eficiência de conversão (LIMA; FELIPE; TORRES, 2003). De acordo com Roberto, Mancilha e Sato (1998), o crescimento das células de levedura demonstra dependência na produção de xilitol, pois é um produto intermediário no catabolismo de leveduras.

A produção do xilitol pela via biotecnológica ocorre por fermentação submersa. A técnica de fermentação submersa possui relativa facilidade de cultivo em grande escala, já que garante a homogeneidade do meio e facilidade no controle dos parâmetros do processo, principalmente se monitorados por sensores adequados (PINHEIRO, 2006).

No presente estudo, foi verificado o crescimento de três linhagens de *C. guilliermondii* relacionando ao consumo de xilose, com o objetivo de utilizar esses dados como indicadores dos melhores parâmetros disponíveis à produção de xilitol.

2 METODOLOGIA

A metodologia desenvolvida envolveu a obtenção da cepa, preparo do inóculo, hidrólise ácida e fermentação, conforme as etapas descritas a seguir.

2.1 OBTENÇÃO DA CEPA

Culturas puras do microrganismo *Candida guilliermondii* foram obtidas da unidade de pesquisa de bioprocessamento e genômica microbiana do departamento de agricultura dos Estados Unidos. Os *pellets* das cepas LBP018, LBP075 e LBP076 foram então ativados em meio Levedura-Malte (YM), e então mantidas em tubos inclinados de meio ágar YM acondicionados à baixa temperatura.

2.2 PREPARO DO INÓCULO

O preparo do meio de crescimento da cepa foi realizada de acordo com a metodologia de Felipe et al. (2003), utilizando-se nutrientes (NH₄)₂SO₄ (2 g/L), solução de extrato de farelo de arroz (20 g/L), CaCl₂.2H₂O (0,1 g/L) e 30g/L de xilose. Esse meio foi inoculado com a cepa utilizando a alça de platina e então colocado sob agitação constante de 150 RPM a 30 °C por 24 h, de acordo com Matos, Felipe e Silva (2003).

O preparo da suspensão de células foi realizado com base na metodologia de Canettieri, Silva e Felipe (2002), com centrifugação do líquido contido no recipiente de crescimento do microrganismo a 2000 RPM por 15 minutos, seguido por diluição do centrifugado em 30 mL de água destilada estéril. A suspensão foi acondicionada em baixa temperatura e sofreu contagem de células para verificação de sua viabilidade.

2.3 HIDRÓLISE ÁCIDA

O bagaço de cana foi coletado com produtores de caldo de cana na Região Sul de Curitiba. O resíduo coletado sofreu tripla lavagem para remoção de qualquer resíduo de açúcar. Após a lavagem, o bagaço permaneceu por 48 horas em estufa a 60 °C para o processo de secagem. Esse bagaço foi triturado e peneirado em 180 mesh. Antes de utilizar o bagaço para hidrólise, foi secada novamente a porção a utilizar na estufa a 50 °C e então utilizado 1 g.

A hidrólise ácida ocorreu de acordo com a metodologia utilizada por Matos, Felipe, Silva (2003). Foi adicionado 10 mL de H₂SO₄ 1M, o recipiente foi então lacrado e levado a autoclave na temperatura de 121 °C por 20 minutos. Seguindo a metodologia de Mussatto e Roberto (2003), o pH foi elevado até 2,0 quando foi adicionado carvão ativado na proporção de 1/40 o hidrolisado foi filtrado em papel filtro com o uso de bomba a vácuo. Após agitação em shaker a 150rpm por 24 horas o hidrolisado foi centrifugado a 2500 rpm por 30 minutos. Com a utilização de tampão NaOH 6M o pH foi elevado até 6,0, condição sob a qual há os melhores valores fermentativos do xilitol de acordo com Sene (2000). Mussatto e Roberto (2003) obtiveram bons resultados com o pH 6,5; por este motivo ele também foi testado.

2.4 FERMENTAÇÃO

A fermentação ocorreu de acordo com a metodologia de Felipe et al. (2003). No processo, 1 mL da suspensão de células com viabilidade verificada mediante contagem de células de cada uma das cepas de *Candida* foi inoculado no respectivo hidrolisado de bagaço de cana. Os recipientes foram colocados em shaker a temperatura de 30 °C e 150 rpm de agitação constante pelo período proposto de 24 h, 48 h, 72 h e 96 h. O meio de fermentação foi constituído do hidrolisado tratado e suplementado com nutrientes (NH₄)₂SO₄ (2 g/L), e farelo de arroz (20 g/L). As fermentações ocorreram em frascos Erlenmeyer de 125 mL com um volume total de 40 mL.

2.5 MÉTODOS ANALÍTICOS

Realizou-se balanço de massa com o objetivo de verificar o aumento da biomassa das leveduras. Após fermentação, o papel filtro foi secado na estufa a 60 °C e pesado na balança analítica. As amostras de fermentação foram então filtradas em papel filtro com a utilização de bomba a vácuo. O filtrado foi coletado e armazenado em tubos Falcon e acondicionados à baixa temperatura no refrigerador. As células de leveduras ficaram retidas no papel filtro. O aumento de biomassa foi calculado comparando o crescimento das leveduras tomando por referência o tempo 0 h, onde não há crescimento. Além de balanço de massa, também foi realizada a análise da concentração de xilose por meio da reação com o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) de acordo Dagnoni, Roesler e Palma (1998), onde se desenvolve uma coloração amarelo-café, cuja absorbância é de 540 nm. Para dosagem, as amostras foram diluídas de forma a se obter como resultado amostras com concentração inferior a um 1 g/L. Com a utilização de espectrofotômetro a densidade óptica foi verificada e os valores de concentração do açúcar foram obtidos por projeção sobre uma reta padrão de xilose. Os resultados da concentração de xilose foram expressos em porcentagem, tomando o tempo inicial como 100%.

3 RESULTADOS

O Gráfico 1 exibe a comparação entre o consumo de xilose de LBP018 nos pH 6,0 e 6,5. O consumo de xilose no pH 6,0 ocorre de maneira mais rápida. Nas primeiras 24 horas há redução da concentração de xilose para 13,9% contra 40,6% durante o pH 6,5. Passadas 48 horas de fermentação há 11,99% de xilose na fermentação com pH 6,0 e 14,38% no pH 6,5. Ao término do processo fermentativo a concentração de xilose no pH 6,0 é de 11,74% e no pH 6,5 é de 9,734%.

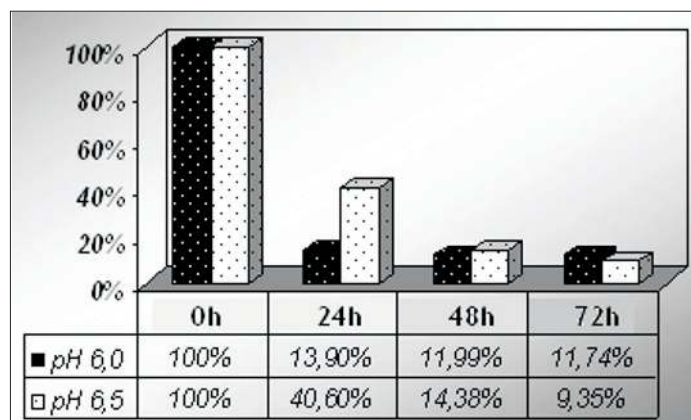


Gráfico 1: Concentração de xilose (%) no processo fermentativo de LBP018 em função do pH

O Gráfico 2 representa o crescimento das três linhagens de *C. guilliermondii* no pH 6,0 ao longo de 72 horas de fermentação. LB018 apresentou os melhores resultados no tempo 24 com 1,3125 g/L de crescimento de biomassa, contra 0,86625 g/L de LBP075 e 0,1475 g/L de LBP076. Ao chegar ao tempo de 48 horas, a diferença se manteve. LBP018 atingiu 1,8225 g/L de crescimento de biomassa contra 1,56625 g/L de LBP075 e 0,91 g/L de LBP076. Passadas 72 horas de fermentação, LBP018 atingiu 2,385 g/L de crescimento contra 1,68125 g/L de LBP075 e 0,9125 g/L de LBP076. Após 96 horas de fermentação, o crescimento de LBP018 era de 1,23375 g/L.

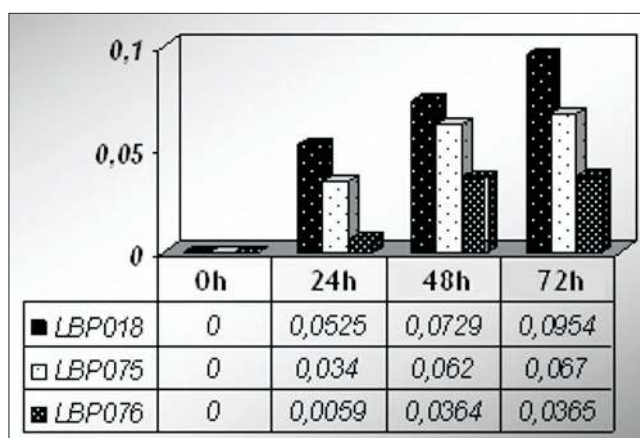


Gráfico 2: Crescimento da biomassa (g) de leveduras produtoras de xilitol no pH 6,0 realizadas pelas três linhagens de *C. guilliermondii* no pH 6,0 ao longo de 72 h de fermentação

Após 24 horas do início do processo fermentativo, a concentração de xilose foi de 13,9% para LBP018, 39,53% para LBP075 e 27,77% para LBP076. Passadas 48 horas de fermentação, LBP018 apresentou 11,99% restante de xilose, LBP075 13,53% e LBP076 11,01%. Após 72 horas do início, LBP018 mostrou 11,74% restantes de xilose, LB075 8,1942% e LBO76 13,26%.

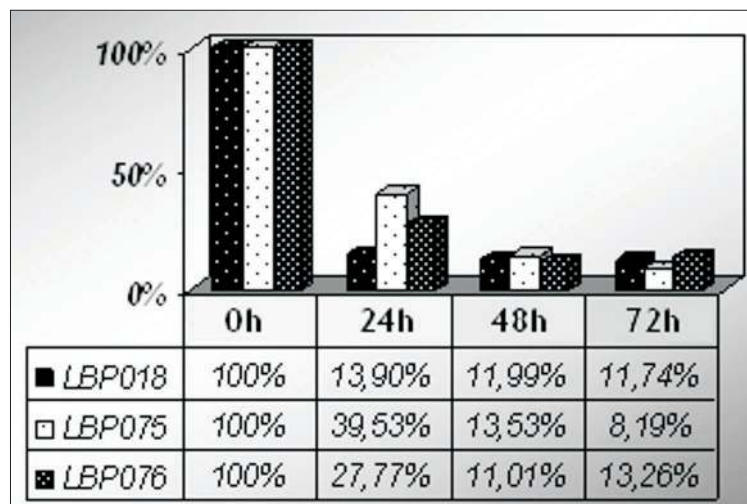


Gráfico 3: Variação da concentração de xilose (%) das três linhagens de *C. guilliermondii* durante o processo fermentativo com pH 6,0

No presente estudo, algumas condições fermentativas da xilose foram previamente investigadas como pH (MUSSATTO; ROBERTO, 2003; SENE, 2000), agitação, temperatura (MATOS; FELIPE; SILVA, 2003), substrato (TAMANINI; HAULY, 2004) e levedura. As variáveis investigadas foram as diferentes cepas de *C. guilliermondii*, o tempo de fermentação e o pH. Metodologia adicional foi utilizada para otimizar o processo como carvão ativado (MUSSATTO; ROBERTO, 2003), assim como a adição de nutrientes (FELIPE et al., 2004).

Tanto a concentração de xilose quanto o crescimento da biomassa das leveduras foram analisados. Os valores comparativos de análise da variável pH são apresentados no Gráfico 1. Com 24 horas de fermentação, a diferença na concentração de xilose mostrou-se bastante significativa. LBP018 consumiu a xilose mais rapidamente no pH 6,0, indicando que este forneceu melhores condições para o microrganismo quando comparado ao pH 6,5. Esses dados reforçam o que foi observado por Sene (2000). No estudo de Roberto, Mancilha e Sato (1998) observa-se que o crescimento e concentração do xilitol demonstraram dependência da produção de xilitol nas células, pois segundo ele, este é um produto intermediário do catabolismo dessas leveduras. Um dos principais objetivos do presente estudo foi verificar o melhor parâmetro para produção do xilitol entre os experimentos realizados. Inferindo-se que o crescimento da levedura está diretamente ligado à produção de xilitol, como afirmado por Roberto, Mancilha e Sato (1998), assim como o consumo da xilose, é possível tomá-los como indicadores da produção de xilitol.

Os valores de crescimento das diferentes cepas produtoras de xilitol em pH 6,0 são apresentados no Gráfico 2. Os melhores resultados foram obtidos por LBP018, a qual apresentou um aumento de 52,5 mg em apenas 24 horas de fermentação e após 72 horas acumulou um aumento de 94,54 mg. Após 96 horas, a massa sofreu redução, indicando que as leveduras começaram a morrer nesse período, como demonstrado no Gráfico 4. LBP076 foi capaz de crescer apenas 36,4 mg, apresentando um aumento de biomassa pouco significativo.

O intenso crescimento de LBP018 nas primeiras 24 horas pode ser explicado em razão do consumo de outros açúcares em baixa concentração, como glicose, que são exauridos muito rapidamente. De acordo com Roberto, Mancilha e Sato (1998), quando o consumo de xilose se inicia, o que ocorre após um período de aproximadamente 10 horas, a taxa de crescimento da levedura decai gradualmente. Isso também explica o elevado crescimento das leveduras nas primeiras 24 horas de fermentação, principalmente da LBP018.

Os resultados da variação da concentração de xilose durante o processo fermentativo são apresentados no Gráfico 3. LBP018 apresentou os melhores resultados. Essa linhagem pôde reduzir a concentração de xilose a apenas 13,9% nas primeiras 24 horas enquanto LB075 foi capaz de reduzi-la a 39,53% e LBP076 a 27,77%. Após 48 horas de fermentação todas as linhagens de *Candida* alcançaram uma concentração similar de xilose. Após 72 horas de fermentação LBP075 exauriu 91,8% da xilose, enquanto LBP018 conseguiu consumir 91,42% e LBP076 86,74%. Matos, Felipe e Silva (2003) obtiveram 76% de consumo de xilose após 48 horas do início do processo.

Relações entre a concentração de xilose e o crescimento das três linhagens de leveduras são apresentadas nos gráficos 4, 5 e 6. A concentração de xilose é inversa ao crescimento das leveduras. A relação entre o crescimento das leveduras e o consumo de xilose existe em virtude do metabolismo da *C. guilliermondii*, o qual é estritamente direcionado à produção de xilitol. Analisando-se o período de 72 horas de fermentação observa-se que o consumo de xilose é reduzido, bem como o crescimento. Segundo Silva et al. (2007), um decréscimo na concentração de xilitol após 72 horas foi observado, indicando que o poli xilitol pode ser assimilado por *C. guilliermondii*, portanto, a redução dos valores de rendimento da produção de xilitol pode estar diretamente associada com o consumo de xilitol pela levedura.

Analisando-se os diferentes dados em conjunto os melhores resultados foram obtidos após 48 horas de fermentação, período no qual aproximadamente 90% da xilose foi consumida e as linhagens de *C. guilliermondii* atingiram uma média de 85,93% de seu crescimento máximo. Parajó, Dominguez e Dominguez (1996) obtiveram mais de 92% de consumo de xilose utilizando hidrolisado de casca de árvore como substrato e Matos, Felipe e Silva (2003) obtiveram em seu estudo o melhor período de fermentação como 48 horas. Assim como observado em outros estudos, no presente trabalho descartam-se os tempos de fermentação acima de 72 horas para a produção de xilitol, pois após esse período as leveduras tendem a consumir o xilitol produzido e há queda da biomassa.

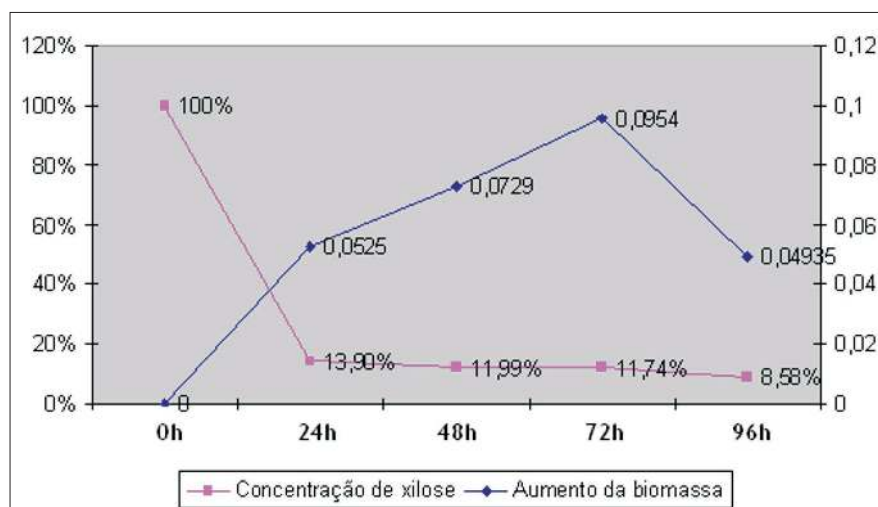


Gráfico 4: Concentração de xilose (%) e da biomassa (g) de LBP018 no pH 6,0

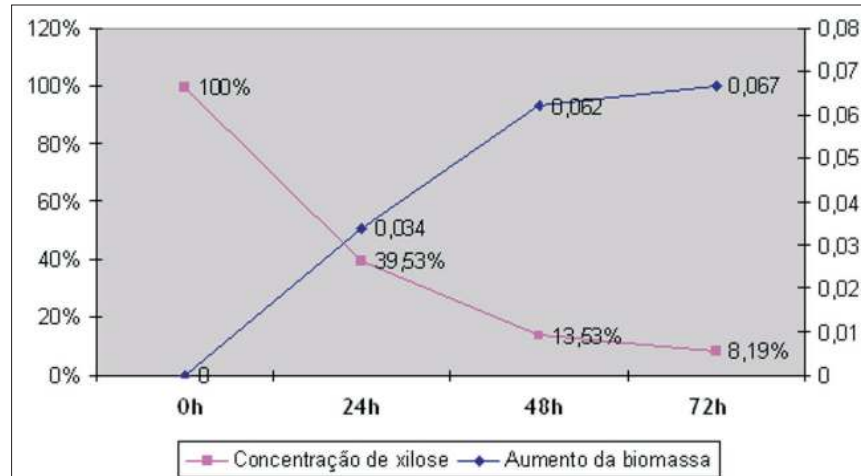


Gráfico 5: Concentração de xilose (%) e da biomassa (g) de LBP075 no pH 6,0

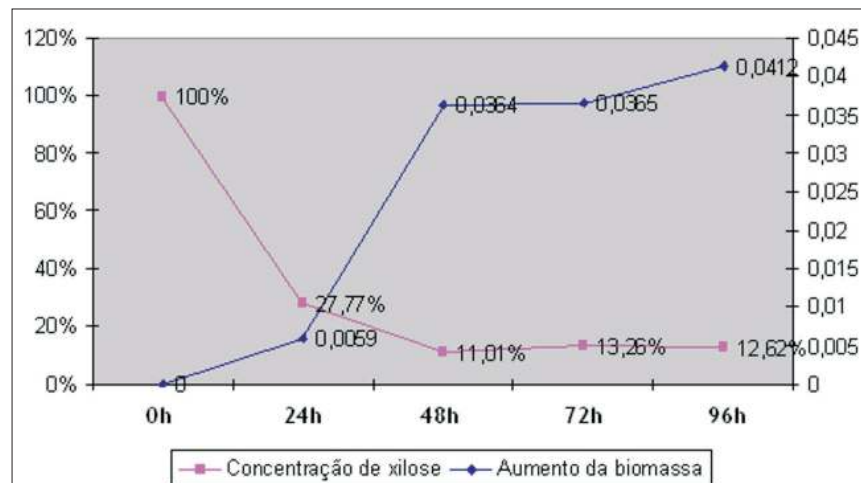


Gráfico 6: Concentração de xilose (%) e da biomassa (g) de LBP076 no pH 6,0

No estudo de Molwitz et al. (1996), o maior crescimento observado não apresentou produção de xilitol. Para Branco et al. (2005), alguns resultados similares foram obtidos. Segundo esses autores, um elevado metabolismo permite consumo mais rápido, o qual leva a uma formação mais rápida do produto, porém o metabolismo pode estar direcionado à formação de biomassa e não à produção de xilitol. Verificando os dados de biomassa e consumo de xilose pode-se inferir que apesar de LBP018 crescer mais e consumir xilose mais rapidamente, uma baixa concentração de xilitol poderia ser obtida em virtude do elevado metabolismo. Entretanto, de acordo com Matos, Felipe e Silva (2003), o metabolismo da xilose por *C. guilliermondii* é direcionado, preferencialmente, à formação de xilitol. É possível deduzir então que produzido pela célula o xilitol pode ser excretado ao meio extracelular ou oxidado em xilulose, a qual pode posteriormente ser convertida em piruvato. Isso explicaria metabolicamente a possibilidade de um alto crescimento vinculado a uma possível baixa concentração de xilitol.

Não é possível comprovar que o alto metabolismo de LBP018 resulte em baixa produção de xilitol a não ser que a concentração de xilitol seja mensurada. LBP075 não cresceu tanto quanto LBP018, porém, observando-se o consumo de xilose e o crescimento dessa linhagem de *C. guilliermondii* pode-se inferir que nesse caso o metabolismo estaria mais lento. Assim, o processo demonstra maior equilíbrio, como visto no Gráfico 7 e, por consequência, espera-se um metabolismo direcionado à produção do xilitol nesse caso.

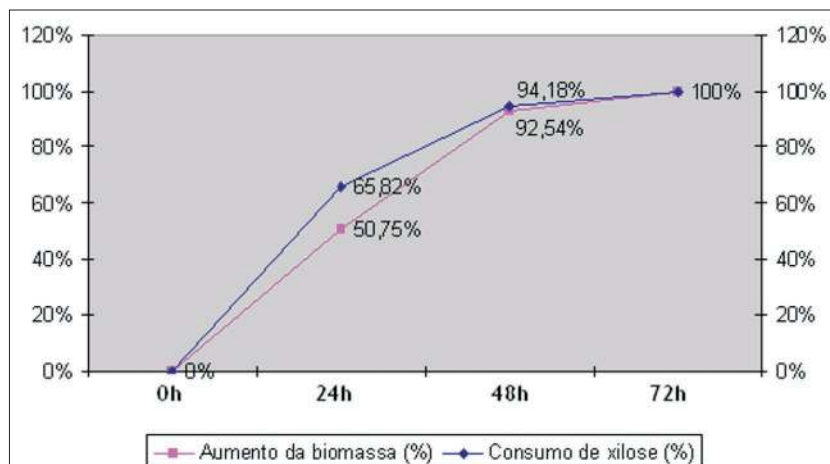


Gráfico 7: Gráfico da comparação entre o crescimento de LB075 (%) e o consumo de xilose (%) no pH 6,0

4 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos no experimento foi possível estimar por meio do crescimento das leveduras e do consumo de xilose, os melhores parâmetros para produção do xilitol. Entre as cepas utilizadas a de melhor resultado foi a LBP018, na qual se obteve a maior quantidade de biomassa e consumo de xilose, porém alguns fatores indicaram que o xilitol possa não ser o produto principal nesse caso. Os dados obtidos foram bastante significativos, entretanto seria necessário realizar um estudo paralelo a este, mensurando a concentração do xilitol, para obtenção de dados mais conclusivos.

Growth and Xylose consumption of *Candida guilliermondii* in the submerge fermentation using sugarcane bagasse

Abstract

*The xylitol has been seen as a product with a great commercial value for the food and pharmaceutical industries as well the odontological sector for its notable characteristics like its sweet taste and prevention of caries, while is recommended to the obese and is tolerated by the diabetics. The xylitol may be obtained through chemical and biotechnological reactions. According to the literature the chemical production of xylitol involves an expensive and unproductive process in response to its purification. On the other hand the biotechnological has become an excellent alternative for its production, using submerge fermentative processes made by microorganisms. In the present research was studied the use of the biotechnological reaction, using the yeast *Candida guilliermondii* and sugarcane bagasse, a low cost agroindustrial residue used for xilose fermentation, as the substrate. Tests were made in duplicate and it was verified the fermentative capacity of three lineages of the *C. guilliermondii* at the times of 0, 24, 48, 72 and 96 hours. For the conversion of the xylana into xylose it was made an acid hydrolysis. Then it was used activated coal for the purification of the hydrolysate and supplementation of the fermentation medium with ammonium sulphate and rice bran. The*

fermentative process occurred in the shaker at 150rpm at 30°C. This study intends to estimate through the yeast growth and the xylose consumption the best fermentative parameters to xylitol production. Among the lineages used the best one results were obtained by the LBP018, where it was obtained the highest biomass and faster xylose consumption.

Keywords: Xylitol. Fermentation. Biotech Process.

REFERÊNCIAS

BRANCO, R. F. et al. Produção Biotecnológica de Xilitol a Partir de Hidrolisado Hemicelulósico de Bagaço de Cana-de-Açúcar em Biorreator de Coluna de Bolhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 6., 2005, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2005.

CANETTIERI, E. V.; SILVA, B. A. S.; FELIPE, M. G. A. Obtenção Biotecnológica do Xilitol a partir de cavacos de Eucalipto. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 3, jul./set. 2002.

DAGNONI, C.; ROESLER, C. R.; PALMA, M. B. Produção de xilanases e carboidratos por fermentação a partir do resíduo da extração do amido de mandioca. In: IBERIAN CONGRESS ON BIOTECHNOLOGY, 4., 1998, Guimarães, Portugal. **BIOTEC 98 – Book of Abstracts**, Portugal, 1998. p. 232-232.

ELIAS, F.; PINZAN, A.; BASTOS, J. R. M. Influência do complexo flúor-xilitol no controle da placa dentária e do sangramento gengival em pacientes herbiátricos com aparelho ortodôntico fixo. **Revista Dental Press Ortodon. Ortop. Facial**, Maringá, v. 11, n. 5, p. 42-56, set./out. 2006.

FELIPE, M. G. A. et al. Avaliação da casca de aveia para obtenção de hidrolisado hemicelulósico e produção de xilitol por processo fermentativo. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14., 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2003. 1 CD-ROM.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C.; FISHER, B. D. Microbiologia ilustrada. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

KRISHNA, S. H.; REDDY, T. J.; CHOWDARY, G. V. Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic wastes to ethanol using thermotolerant yeast. **Biores. Technol.**, v. 77, p. 193-196, 2001.

LIMA, L. H. A.; FELIPE, M. G. A.; TORRES, A. G. T. Reclassification of *Candida guilliermondii* FTI 20037 as *Candida tropicalis* based on molecular phylogenetic analysis. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v. 34, nov. 2003.

MANUAL dos Derivados da Cana de Açúcar. Brasília, DF: ABIPTI, 1999.

MATOS, G. S.; FELIPE, M. G. A.; SILVA, S. S. Formação de xilitol, etanol e glicerol por *Candida guilliermondii* FTI 20037 durante a fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14., 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2003. 1 CD-ROM.

MOLWITZ, M. et al. Aspects of the Cell Growth of *Candida Guilliermondii* in Sugar Cane Bagasse Hydrolisate. Zeitschrift für Naturforschung. **Journal of Biosciences**, v. 51c, n. 5-6, p. 404-408, 1996.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Produção de xilitol a partir da palha de arroz: otimização do tratamento do hidrolisado com carvão ativo, através da metodologia de superfície de resposta.. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 14., 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2003. 1 CD-ROM.

NEUREITER, M. et al. Dilute-acid hydrolysis of sugarcane bagasse at varying conditions. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 98-100, p. 49-58, 2002.

PANDEY, A. et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 69-80, 2000.

PARAJÓ, J. C.; DOMINGUEZ, H. D.; DOMINGUEZ, J. M. Biotechnological Production of Xylitol. Parte 3: Operation in Culture Media Made From Linocellulose Hydrosilates. **Bioresource Technology**, n. 66, p. 25-40, 1998.

_____. Production of xylitol from concentrated wood hydrolysates by *Debaryomyces hansenii*: effect of the initial cell concentration. **Biotechnology Letters**, v. 18, p. 593-598, 1996.

PESSOA JUNIOR, A.; MANCILHA, I. M.; SATO, S. Acid hydrolysis of hemicellulose from sugarcane bagasse. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 14, n. 3, p. 309-312, 1997.

PINHEIRO, T. L. F. Produção de Lípases por fermentação em estado sólido e submersa utilizando *Penicillium Verrucosum* como microrganismo. 2006. 106 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)–Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2006.

ROBERTO, I. C.; MANCILHA, I. M.; SATO, S. Kinetics of Xylitol Fermentation By *Candida guilliermondii* grown on rice straw hemicellulosic hydrolysate. In: SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY FOR FUELS AND CHEMICALS, 20., 1998, Gatlinburg, Tennessee. **Anais...** Tennessee, 1998. p. 205-210.

SENE, L. Obtenção e cinética da xilose redutase e xilitol desidrogenase de *Candida guilliermondii* cultivada em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. 2000. 107 p. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímico Farmacêutica)–Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

SILVA, D. D. V. et al. Improvement of Biotechnological Xylitol Production by Glucose During Cultive of *Candida guilliermondii* in Sugarcane Bagasse Hydrolysate. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p. 207, 2007.

SILVA, S. S. et al. Maximizing the xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate by controlling the aeration rate. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 63-64, p. 557-563, 1997.

TAMANINI, C.; HAULY, M. C. O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. Agro-industrial residues in biotechnological production of xylitol. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 315-330, out./dez. 2004.

TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

Recebido em 15 de outubro de 2009

Aceito em 16 de novembro de 2009