

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA
ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA**

CINTHIA BARBOSA DANTAS

**EFEITO DO GLICEROL COMO CO-SUBSTRATO NA BIOCONVERSÃO DE
XILOSE EM XILITOL PELA LEVEDURA *Candida guilliermondii*: MODELAGEM E
SIMULAÇÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**TOLEDO
2021**

CINTHIA BARBOSA DANTAS

**EFEITO DO GLICEROL COMO CO-SUBSTRATO NA BIOCONVERSÃO DE
XILOSE EM XILITOL PELA LEVEDURA *Candida Guilliermondii*: MODELAGEM E
SIMULAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia como requisito para obtenção do título de Engenheiro(a) de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Jones Erni Schmitz
Co-orientadora: Prof^a. Dra. Priscila Vaz de Arruda

TOLEDO

2021

CINTHIA BARBOSA DANTAS

**EFEITO DO GLICEROL COMO CO-SUBSTRATO NA BIOCONVERSÃO DE
XILOSE EM XILITOL PELA LEVEDURA *Candida Guilliermondii*: MODELAGEM E
SIMULAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia como requisito para obtenção do título de Engenheiro(a) de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 27 de agosto de 2021

Prof. Dr. Jones Erni Schmitz
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Prof. Dr. Robson Luciano De Almeida
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Prof. Dr. Fabiano Bisinella Scheufele
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

TOLEDO

2021

*Dedico esse trabalho aos meus pais,
Maria e Jair e aos meus irmãos Bryan e
Caio, que infelizmente não está mais
entre nós.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus e a minha família e amigos, especialmente a minha mãe Maria, por ter me acompanhado e dado todo o suporte nessa etapa tão importante na minha vida.

Agradeço aos meus irmãos Bryan e Caio, pela a companhia e pelos momentos de alegria que vou guardar para sempre na memória. O Caio e eu íamos nos formar juntos no mesmo curso – irmãos engenheiros. Ambos planejávamos um futuro cheio de sonhos e planos, mas não se pode controlar a morte e nem como ela acontece, e ele acabou indo embora tão rápido e nem pude me despedir. Entrei na universidade com ele no ano de 2015 e vou sair sem ele agora em 2021. Que descanse em paz.

Agradeço também aos professores Jones Schmitz e Priscila Arruda que foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

RESUMO

DANTAS, Cinthia Barbosa. **Efeito do glicerol como co-substrato na bioconversão de xilose em xilitol pela levedura *Candida guilliermondii*: modelagem e simulação.** 2021. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2021.

A sacarose é um aditivo aplicado em uma ampla variedade de alimentos pois proporciona melhor palatabilidade, tornando-o mais atrativo para consumo. Entretanto, em excesso, esse açúcar pode causar malefícios à saúde. Nesse contexto, o xilitol se apresenta com uma alternativa, devido ao seu potencial adoçante semelhante ao da sacarose, mas com propriedades que são mais vantajosas ao bem-estar humano. Majoritariamente, o xilitol é produzido por meio de processos químicos, mas que demandam diversas operações custosas e que diminuem o rendimento final do processo, sendo assim, a via biotecnológica pode ser uma alternativa para a produção industrial deste adoçante. Nesse sentido, as leveduras são as mais estudadas para essa bioconversão, e dentre elas estão as do gênero *Candida*. A produção de xilitol se sucede através da redução da xilose em xilitol através da enzima Xilose Redutase (XR) na presença de NADPH como cofator. Durante a bioconversão, verifica-se a formação de glicerol com um subproduto deste metabolismo, o que indesejável frente ao desvio da fonte de carbono principal para sua formação. Devido ao alto valor comercial do produto é importante a aplicação de ferramentas que auxiliem na previsão da produção deste adoçante. Dessa forma, o presente trabalho tem como finalidade avaliar modelos matemáticos para prever o comportamento da levedura *Candida guilliermondii* empregando glicerol como co-substrato para a produção de xilitol, utilizando o programa MATLAB® para simulação e otimização, considerando os dados disponíveis na literatura. De acordo com os resultados, os modelos utilizados se mostraram eficazes para prever o comportamento dos perfis de concentração avaliados para cada condição testada, com R^2 variando de 0,9574 a 0,9833 para crescimento celular, 0,9264 a 0,9904 para glicerol, 0,9974 a 0,9995 para xilose e 0,9919 a 0,9983 para xilitol e sem variação significativa entre as 6 condições analisadas, indicando boa qualidade nos ajustes realizados e adequação dos modelos aos dados observados.

Palavras-chave: Produção de adoçantes. Otimização. Modelo cinético.

ABSTRACT

DANTAS, Cinthia Barbosa. **Effect of glycerol as co-substrate on the bioconversion of xylose to xylitol by the yeast *Candida guilliermondii*: modeling and simulation.** 2021. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bioprocess and Biotechnology Engineering) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2021.

Sucrose is a specialized additive in a wide variety of foods as it offers the best palatability, making it more attractive for consumption. However, in excess, this sugar can cause harm to health. In this context, xylitol presents itself as an alternative, due to its sweetening potential similar to that of sucrose, but with properties that are more advantageous to human well-being. Mostly, xylitol is produced through chemical processes, but that require several costly operations and that reduce the final yield of the process, thus, the biotechnological route can be an alternative for the industrial production of this sweetener. In this sense, yeasts are the most studied for this bioconversion, and among them are the *Candida* genus. The production of xylitol takes place through the reduction of xylose to xylitol through the enzyme Xylose Reductase (XR) in the presence of NADPH as a cofactor. During a bioconversion, there is the formation of glycerol as a by-product of this metabolism, which is undesirable due to the deviation of the main carbon source for its formation. Due to the high commercial value of the product, it is important to apply tools to help predict the production of this sweetener. Thus, the present work aims to evaluate mathematical models to predict the behavior of *Candida guilliermondii* yeast using glycerol as a co-substrate for the production of xylitol, using the MATLAB® program for simulation and optimization, considering the data available in the literature. According to the results, the models used are based to predict the behavior of the concentration profiles obtained for each condition tested, with R^2 ranging from 0.9574 to 0.9833 for cell growth, 0.9264 to 0.9904 for glycerol, 0.9974 to 0.9995 for xylose and 0.9919 to 0.9983 for xylitol and with no expected variation between the 6 conditions analyzed, indicating good quality in the adjustments made and adequacy of the models to the observed data.

Keywords: Sweetener production. Optimization. Kinetic model.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação da estrutura química do xilitol (C ₅ H ₁₂ O ₅)	14
Figura 2 – Fluxograma da produção por via química de xilitol e xilose	18
Figura 3 – Representação das etapas de hidrólise ácida da xilana e hidrogenação catalítica da xilose pela produção química.	19
Figura 4 – Esquema simplificado da via metabólica de D-xilose em leveduras.	22
Figura 5 – Variação de complexidade dos tipos de modelos. A complexidade aumenta do canto superior esquerdo para o inferior direito	27
Figura 6 - Representação do diagrama de blocos do processo de simulação e otimização	34
Figura 7 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição I.	36
Figura 8 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição II.	37
Figura 9 - Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição III.	37
Figura 10 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição IV.	38
Figura 11 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição V.	38
Figura 12 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição VI.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características físico-químicas do xilitol.....	15
Tabela 2 – Fator de conversão e produtividade volumétrica de xilitol para diferentes microrganismos e fontes de substrato.....	25
Tabela 3 – Dados experimentais das concentrações iniciais de células, substratos e produto.	32
Tabela 4 – Resultados da otimização dos ajustes nos perfis das condições I, II, III, IV, V e VI	39
Tabela 5 – Parâmetros otimizados utilizados para ajuste dos modelos	43

LISTA DE SÍMBOLOS

C_x	Concentração de biomassa (g/L)
S_2	Concentração de glicerol (g/L)
P	Concentração de xilitol (g/L)
S_1	Concentração de xilose (g/L)
$K_{i,glíc}$	Constante de inibição da assimilação de glicerol por xilose (g/L)
$K_{i,xil}$	Constante de inibição da assimilação de xilose por glicerol (g/L)
$K_{s,glíc}$	Constante de saturação de glicerol (g/L)
$K_{s,xil}$	Constante de saturação de xilose (g/L)
μ_X	Velocidade específica de crescimento celular (1/h)
$\mu_{glíc}^{max}$	Velocidade específica máxima de crescimento celular (glicerol) (1/h)
μ_{xil}^{max}	Velocidade específica máxima de crescimento celular (xilose) (1/h)
$q_{s(glíc)}$	Velocidade específica de glicerol ($g_{glíc} / g_{células} h$)
$q_{s(xil)}$	Velocidade específica de xilose ($g_{xil} / g_{células} h$)
$q_{s(glíc)}^{max}$	Velocidade específica máxima de glicerol ($g_{glíc} / g_{células} h$)
$q_{s(xil)}^{max}$	Velocidade específica máxima de xilose ($g_{xil} / g_{células} h$)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	12
2.1 GERAL	12
2.2 ESPECÍFICOS	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO XILITOL.....	14
3.2 APLICAÇÕES DO XILITOL.....	15
3.3 PRODUÇÃO DE XILITOL POR VIA QUÍMICA.....	16
3.4 PRODUÇÃO DE XILITOL POR VIA BIOLÓGICA	19
3.5 METABOLISMO E CONVERSÃO MICROBIOLÓGICA DO GLICEROL	20
3.6 FATORES QUE INFLUENCIAM NA PRODUÇÃO DE XILITOL.....	23
3.7 MODELAGEM MATEMÁTICA NA ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS	25
3.7.1 Classificação de modelos cinéticos de processos fermentativos	26
3.7.2 Modelos cinéticos	28
3.7.3 Simulação.....	29
3.7.4 Otimização	29
3.7.4.1 Ajuste de curvas.....	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO FERMENTATIVO	32
4.2 PROCESSO DE SIMULAÇÃO E OTIMIZAÇÃO	33
4.2.1 Função Objetivo (<i>S</i>)	34
4.2.2 Coeficiente de determinação (<i>R</i> ²).....	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6. CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46

1. INTRODUÇÃO

Um dos açúcares mais utilizados na indústria alimentícia é a sacarose, um edulcorante que é amplamente empregado como aditivo em uma variedade de alimentos, pois adiciona um sabor diferencial, que o torna mais atrativo para consumo. Entretanto, o impacto da ingestão excessiva desse açúcar pode causar malefícios a saúde como a obesidade, diabetes e doenças dentárias. Sendo assim, é necessário a busca por adoçantes alternativos que tenham características semelhantes a sacarose e que tenham menores impactos na saúde dos consumidores (RILEY; LOCKE; SKYE, 2011)

Uma possível alternativa seria a troca da sacarose por um adoçante mais seguro, como o xilitol, um poliol que apresenta um potencial adoçante semelhante da sacarose, mas com propriedades que são mais vantajosas para a saúde humana, pois não é dependente de insulina para ser metabolizado como ocorre com a sacarose, portanto, sendo o uso indicado para diabéticos (KUMAR et al., 2019).

O poliol também possui aplicação farmacêutica devido a sua atividade antibiótica, pois alguns gêneros bacterianos são incapazes de metaboliza-lo e utilizá-lo como fonte de energia, e dessa forma, diminui a proliferação desses microrganismos em indivíduos que o consomem. Não somente auxiliando na saúde bucal, mas também protegendo outras partes do organismo como pulmão, ouvidos e derme (DASGUPTA et al., 2017).

Geralmente, o xilitol é produzido na indústria por meio de processos químicos, que possuem custo elevado e que exige muitas etapas e reagentes em função não só da necessidade da alta pureza do substrato, como também da necessidade da presença de catalisadores químicos, em condições de altas temperaturas e pressão. Diante disso, surge a necessidade de uma opção de produção que torne o processo menos dispendioso, sendo uma alternativa a bioconversão microbiana de matéria-prima lignocelulósica em xilitol. Dentre os microrganismos, as leveduras têm-se mostrado eficientes, com rendimento e produtividade teoricamente adequados para utilização industrial (SOUZA, 2019).

Diversas espécies de leveduras foram estudadas para conversão de soluções comerciais de xilose ou açúcar em xilitol. Dentre as analisadas, os melhores produtores de xilitol foram considerados aqueles do gênero *Candida*, especialmente

as espécies *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* e *Candida boidini* (MUSSATO; SILVA; ROBERTO, 2006).

A produção de xilitol ocorre através da redução da xilose em xilitol por meio da enzima Xilose Redutase (XR) na presença de NADPH como cofator. Essa reação pode ser influenciada por diversos fatores, como por exemplo, a concentração de células e de substrato no meio de cultivo, temperatura, pH, presença de oxigênio e de compostos que inibidores. Além disso, deve-se considerar a presença de múltiplos substratos que podem afetar a eficiência metabólica da fermentação (MUSSATO; SILVA; ROBERTO, 2006).

Sendo o xilitol um produto de alto valor agregado e de alta demanda, é desejável a aplicação de ferramentas que possam prever o comportamento cinético de formação de biomassa, bem como, o consumo de substratos e geração de produtos de interesse. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo propor um modelo baseado nas equações cinéticas de Dunn et al. (1992) e Tochampa et al. (2005) para a predição das curvas de produção de xilitol pela levedura *C. guilliermondii* utilizando glicerol como co-substrato e validar os resultados da simulação utilizando dados experimentais disponíveis no trabalho de Arruda (2007).

Assim sendo, será apresentada a revisão bibliográfica pertinente a simulação de processo fermentativos no Capítulo 3, para então, serem descritos os métodos utilizados no Capítulo 4. Os resultados e a discussão, apresentados no Capítulo 5, serão referentes aos resultados das predições dos modelos nas concentrações analisados, comparando-as com os dados observados.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Propor um modelo matemático baseado nas equações cinéticas de Dunn et al. (1992) e Tochampa et al. (2005) para prever os perfis de produção de xilitol pela levedura *C. guilliermondii* utilizando glicerol como co-substrato, simulando o processo através de resoluções numéricas e de sistemas de equações algébricas diferenciais utilizando o MATLAB® e validando-o com os dados experimentais obtidos na literatura.

2.2 ESPECÍFICOS

- Analisar se os modelos matemáticos propostos por Dunn et al. (1972) e Tochampa et al. (2005) são capazes de descrever os processos de produção de xilitol nas condições descritas na dissertação de Arruda (2007);

- Obter o modelo matemático que descreve o processo de produção de xilitol, células e glicerol e do consumo xilose;

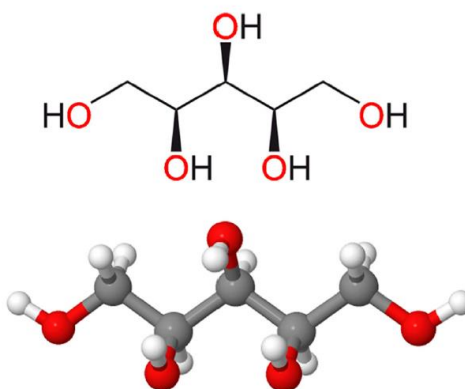
- Otimizar os parâmetros, simular o modelo matemático utilizando resoluções numéricas e de sistemas de equações algébricas diferenciais disponíveis no programa MATLAB® e validar os resultados da produção de utilizando dados disponíveis no trabalho de Arruda (2007).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO XILITOL

O xilitol, como é conhecido comercialmente, é um álcool penta-hidratado (poliol) com cinco grupos hidroxila (OH) onde cada hidroxila está ligada a um átomo de carbono (Figura 1) (MÄKINEN, 2000). Inicialmente, o xilitol foi descoberto em 1891 por Emil Fischer, um químico alemão e desde os anos 60, vem sendo utilizado como adoçante em alimentos para humanos. No Brasil, em 1980 o adoçante foi aprovado como produto dietético pela Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Medicamentos do Ministério da Saúde (AGUIAR; OETTERER; MENEZES, 1999).

Figura 1 - Representação da estrutura química do xilitol (C₅H₁₂O₅)



Fonte: GASMI et al. (2020)

Ademais, o xilitol é uma substância facilmente encontrada em baixas quantidades em frutas vermelhas como morango, ameixa e framboesa, e em vegetais como a abóbora e o espinafre (CANILHA et al., 2013; GUPTA, 2018). O interesse primário no xilitol diz respeito ao seu potencial como adoçante alternativo. Em oposição aos demais edulcorantes não calóricos – sacarina, por exemplo – suas propriedades são similares às da sacarose. Sendo facilmente diluído em água, seu poder edulcorante é praticamente equivalente ao deste dissacarídeo, com a vantagem de o valor calórico ser 40% menor (MODESTO, 2015).

Além disso, o xilitol possui alta estabilidade química e microbiana, podendo ser utilizado como conservante em alimentos mesmo em baixas concentrações, apresentando resistência de proliferação microbiológica prolongando, assim, a vida útil dos alimentos (BAR, 1986; MUSSATTO et al., 2002; LIMA, 2006). Por não haver

grupos aldeído ou cetona em sua molécula, o xilitol também não sofre deterioração pela reação de *Maillard*, que promove o escurecimento não enzimático, que pode levar à diminuição do valor nutricional (MUSSATTO et al., 2002; LIMA; BERLINCK, 2003). Devido à sua estrutura química, o poliol tem atividade quelante para alguns cátions como Cu^{2+} , Ca^{2+} e Fe^{2+} , formando, assim, complexos com esses íons (CHEN et al., 2010). Em razão dessa característica, o xilitol tem aplicação farmacêutica, podendo ser utilizado no tratamento da osteoporose, ao estimular a absorção e a manutenção de cálcio nos ossos (MUSSATO, 2012). Outras características e propriedades físicas e químicas do xilitol são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características físico-químicas do xilitol.

Propriedades	Características/Valores
Formula empírica	$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5$
Nome Químico	1,2,3,4,5 Pentahidroxi pentano
Massa Molar	152,15 g/mol
Aparência	Pó cristalino
Coloração	Branco
Sabor	Adocicado
Odor	Não apresenta
Ponto de Fusão	92 °C – 96 °C
Ponto de Ebulição	216 °C
pH (solução aquosa 10%)	5 – 7
Densidade	1,03 g/mL (solução 10%) 1,23 g/mL (solução 60%)
Solubilidade	64,2 g/100 g solução
Viscosidade (a 20°C)	1,23 cP (solução 10%) 20,63 cP (solução 60%)
Poder adoçante	Similar à sacarose, maior que sorbitol ou manitol
Valor Calórico	2,4 kcal/g
Estabilidade	Estável a 120 °C (não carameliza)

Fonte: MUSSATO (2012)

3.2 APLICAÇÕES DO XILITOL

Uma das principais aplicações do xilitol é como aditivo substituto da sacarose em alimentos industrializados, tais como, balas, refrigerante e sobremesas. Devido ao seu baixo valor calórico e ao fato de não necessitar de insulina para ser metabolizado,

o consumo do xilitol como adoçante é recomendável para indivíduos obesos e diabéticos, evitando assim a hiperglicemia, ao retardar a assimilação de glicose no intestino e melhorar a captação deste pelo tecido muscular (AHUJA et al., 2020).

Outra propriedade do xilitol é o fator anticariogênico, devido à redução da proliferação das bactérias do gênero *Streptococcus*. Isso ocorre devido à ausência de um grupo carbonila redutor, que reduz a capacidade reativa da molécula em comparação às hexoses tornando-o menos acidogênico e cariogênico, sendo uma característica importante que auxilia no tratamento de cáries (KÖING, 2000; MÄKINEN, 2010).

Na indústria cosmética, o xilitol é aplicado em formulações de hidratantes, por apresentar potencial no controle do equilíbrio da microflora da pele decorrente de sua ação inibitória no desenvolvimento de certas bactérias, como por exemplo, o *Staphylococcus aureus* (KATSUYAMA, 2005; MAEDA; OGAWA, 2002).

Segundo Asano (2014), o poliol também tem aplicação na indústria cosmética, podendo ser utilizado como agente preservante, combatendo as possíveis contaminações durante a manufatura do produto. A contaminação microbiana apresenta um risco potencial para a qualidade do cosmético e pode causar diversos prejuízos ao aspecto físico ao produto, além de afetar de maneira negativa a saúde do indivíduo que o utiliza. A maior característica de um agente preservante é que ela deve promover de forma eficaz a inibição da proliferação de microrganismos indesejados. O agente ideal deve ser estável, compatível com outros ingredientes da formulação, apresentar um espectro de ação em baixas concentrações, ser eficaz em diferentes valores de pH e não causar efeitos tóxicos, irritativos e/ou hipersensíveis (PAREDA et al., 2014).

3.3 PRODUÇÃO DE XILITOL POR VIA QUÍMICA

Um das principais vias de obtenção do xilitol na natureza é através fontes naturais como vegetais, fungos e líquens por extração sólido-líquido, porém, esta última está presente em baixa concentração (menos de 0,9 g/100 g) portanto, este processo se torna economicamente inviável em larga escala (LIMA, 2006).

A produção industrial deste adoçante geralmente ocorre por processo químico, que consiste na redução de xilose, derivada principalmente de hidrolisados de materiais lignocelulósicos ricos em xilana. As principais matérias primas utilizadas no

processo são: arroz, trigo, cevada, bagaço de cana-de-açúcar e casca de algodão (FRANÇOSO, 2015; SOUZA, 2013).

Industrialmente, o xilitol é geralmente produzido por rota química, através da redução da xilose purificada, na presença de catalisadores químicos, em condições de altas temperaturas e pressão. Segundo Albuquerque (2014), a produção de xilitol por rota química ocorre através de 5 etapas, conforme descrito nas Figuras 2 e 3:

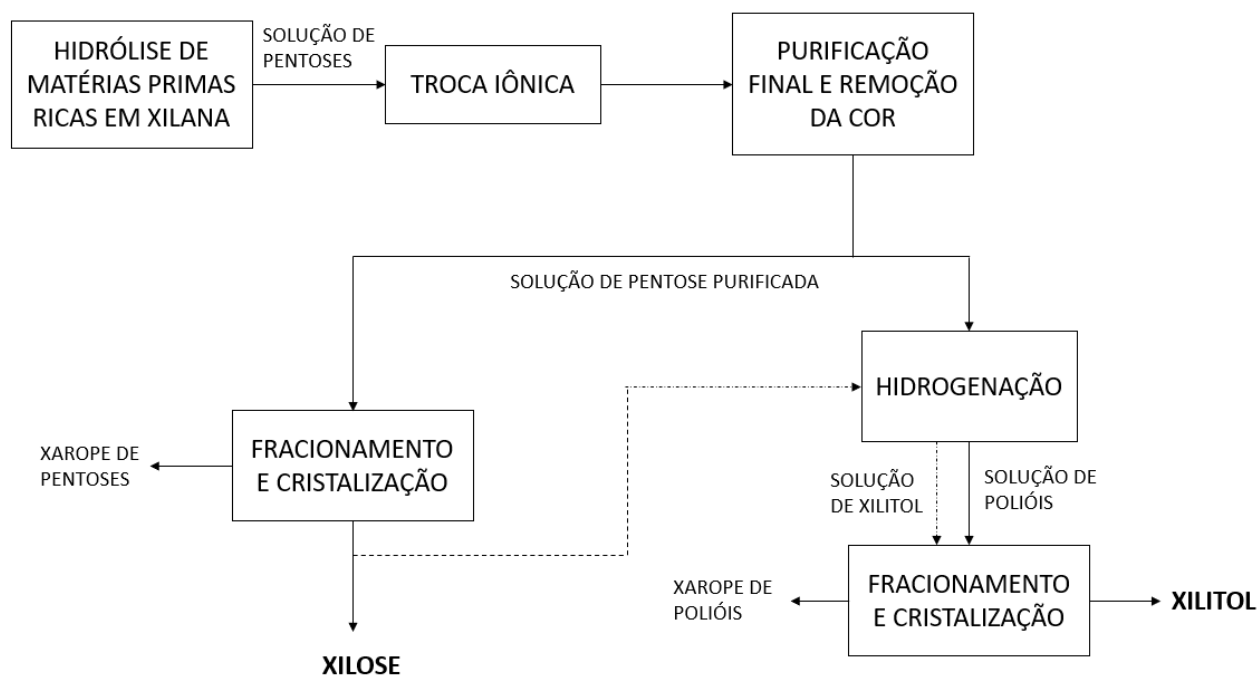
1. Hidrólise ácida da xilana;
2. Purificação do hidrolisado para obtenção de xilose;
3. Utilização de catalisador de alumínio ou níquel para a reação de hidrogenação de xilose para xilitol;
4. Purificação do xilitol;
5. Cristalização do xilitol.

O rendimento máximo do processo fica em torno de 50-60% (GRASTRÖM; IZUMORI; LEISOLA, 2007; SU, 2015). Sendo que em algumas etapas o tempo de processamento pode ser elevado, como na hidrogenação catalítica que pode durar de três a cinco horas, dependendo dos equipamentos utilizados (ALBUQUERQUE, 2014).

No entanto, o aspecto crítico desta técnica consiste na purificação de xilose do hidrolisado (NIKOLAEV et al., 1983), uma vez que o rendimento do processo por via química, assim como a qualidade do xilitol, que é dependente da pureza da solução inicial de xilose, já que impurezas podem interferir na redução catalítica. Para a obtenção da solução de xilose de elevada pureza, são necessários operações de troca-iônica, descoloração e fracionamento cromatográfico (LIMA, 2006; MICHEL,2007).

Além disto, após a remoção do catalisador por filtração e troca-iônica, a solução contendo xilitol concentrado, sofre fracionamento cromatográfico utilizando resinas catiônicas e é cristalizada para obtenção do produto puro. Com as várias etapas de purificação para remoção de resíduos e subprodutos resultam no aumento de tempo de processamento e encarecimento do produto, o que pode representar um custo até dez vezes maior do que valor da sacarose, limitando a sua aplicação em larga escala (LIMA, 2006; MICHEL,2007).

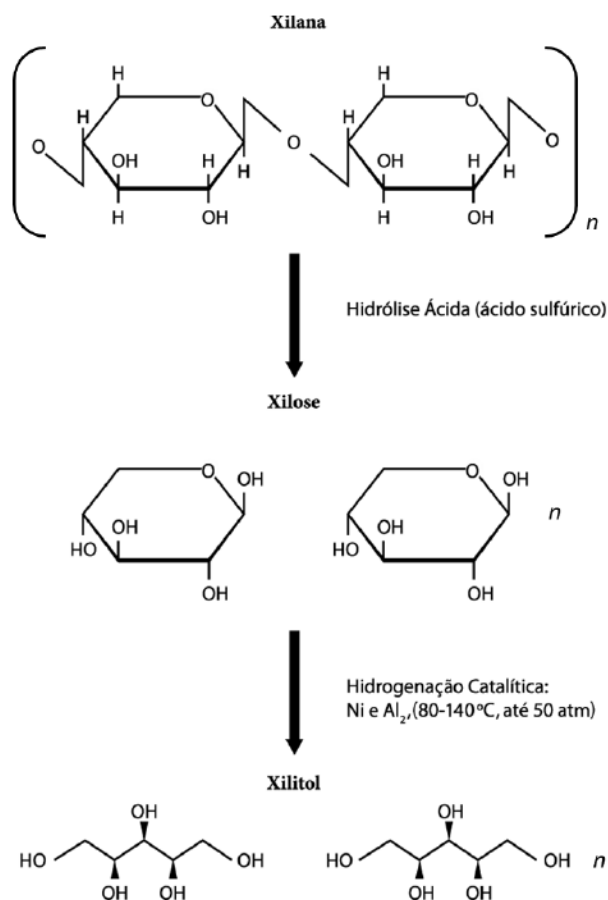
Figura 2 – Fluxograma da produção por via química de xilitol e xilose



Fonte: Baseado em HYVÖNEN et al. (1982)

Devido a esses aspectos desfavoráveis, é necessário busca por alternativas ao processo convencional, com destaque para a produção biotecnológica do xilitol. Algumas de suas vantagens envolvem o emprego de condições mais brandas de temperatura e pressão (CUNHA, 2006; SANTOS, 2005): a possibilidade de utilização de D-xilose com pureza inferior, desde que se utilize o agente biológico indicado (SARROUH; SILVA, 2008) e a não formação de resíduos tóxicos cujas remoções sejam necessárias durante a purificação (TADA et al., 2004).

Figura 3 – Representação das etapas de hidrólise ácida da xilana e hidrogenação catalítica da xilose pela produção química.



Fonte: Carneiro (2018)

3.4 PRODUÇÃO DE XILITOL POR VIA BIOLÓGICA

A metabolização da xilose é um fenômeno comum para microrganismos eucariotos e procariotos, pois participa da via da pentose fosfato e da glicólise para geração de energia. Desse modo, os microrganismos com a via ativa da Xilose Redutase são possíveis biocatalisadores para a formação de xilitol em escala industrial. Essa biotransformação é mais frequente em fungos, como nas espécies: *Candida guilliermondii*, *Pichia spitis*, *Scheersomyces amazonensis* e *Kluyveromyces marxianus*, mas também é encontrada em algumas bactérias como a *Enterobacter sp.*, *Corynebacterium*, *Bacillus* e *Pseudomonas* (AHUJA et al., 2020). As leveduras têm sido bastante avaliadas por apresentarem capacidade de metabolizar xilose naturalmente e apresentarem bons rendimentos de xilitol devido à expressão das enzimas Xilitol Redutase e Xilitol Desidrogenase (VENKATESWAR, 2015).

A biotransformação de xilose à xilitol envolve uma série de fatores, como enzimas, cofatores enzimáticos, substratos, parâmetros químicos, físicos e biológicos, em leveduras e fungos aeróbicos, a via metabólica consiste em três enzimas: Xilitol Redutase (XR), Xilitol Desidrogenase (XDH) e Xilulose Quinase (XK) (GRANSTRÖM; IZUMORI, K; LEISOLA, 2007). Inicialmente, é necessário que ocorra o transporte da xilose para o interior da célula do microrganismo por meio de transportadores na membrana plasmática. Como consequência disso, a xilose é reduzida pela XR dependente de NADH ou NADPH. Como a etapa de redução da xilose é única, a XR detém o status de componente mais importante da via metabólica da xilose. Depois da redução da xilose a xilitol pela XR, o xilitol é então oxidado a xilulose pela enzima XDH que utiliza preferencialmente o cofator NAD⁺ (SU et al., 2013), de acordo com o esquema metabólico simplificado representado na Figura 4.

A D-xilulose é convertida a xilulose-5-fosfato pela enzima XK de forma que possibilita que as pentoses possam ser utilizadas nas vias metabólicas centrais, com a consequente inserção no ciclo das pentoses fosfato, no qual é composto de duas fases: uma oxidativa, responsável pela conversão de hexoses-fosfato em pentoses-fosfato, com geração concomitante de NADPH, e outra etapa não-oxidativa em que as pentose-fosfato são convertidas a hexose e triose fosfato, sendo gerados gliceraldeído 3-fosfato e frutose 6-fosfato, os quais podem ser convertidos a glicerol e piruvato na Glicólise (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998).

3.5 METABOLISMO E CONVERSÃO MICROBIOLÓGICA DO GLICEROL

O glicerol é considerado uma fonte de carbono altamente reduzida e assimilável por bactérias e leveduras sob condições aeróbicas e anaeróbicas para o ganho de energia metabólica, como regulador do potencial redox e para reciclagem de fosfato inorgânico intracelular (ANSELL et al., 1997; DILLIS et al., 1980; GANCEDO; GANCEDO, 1968; LAGES; SILVA-GRAÇA; LUCAS, 1999; NEVOIGT, STAHL 1997; TANI; YAMADA, 1987).

O transporte do glicerol através da membrana celular constitui a primeira etapa para a sua metabolização. A assimilação de glicerol por parte dos microrganismos envolve o transporte passivo ou transporte ativo por intermédio da membrana plasmática (DILIS et al., 1980; GANCEDO; GANCEDO, 1968; LAGES; SILVA-

GRAÇA; LUCAS, 1999; NEVES; LAGES; LUCAS 1997; VOEGELLE, SWETT; BOOS, 1993).

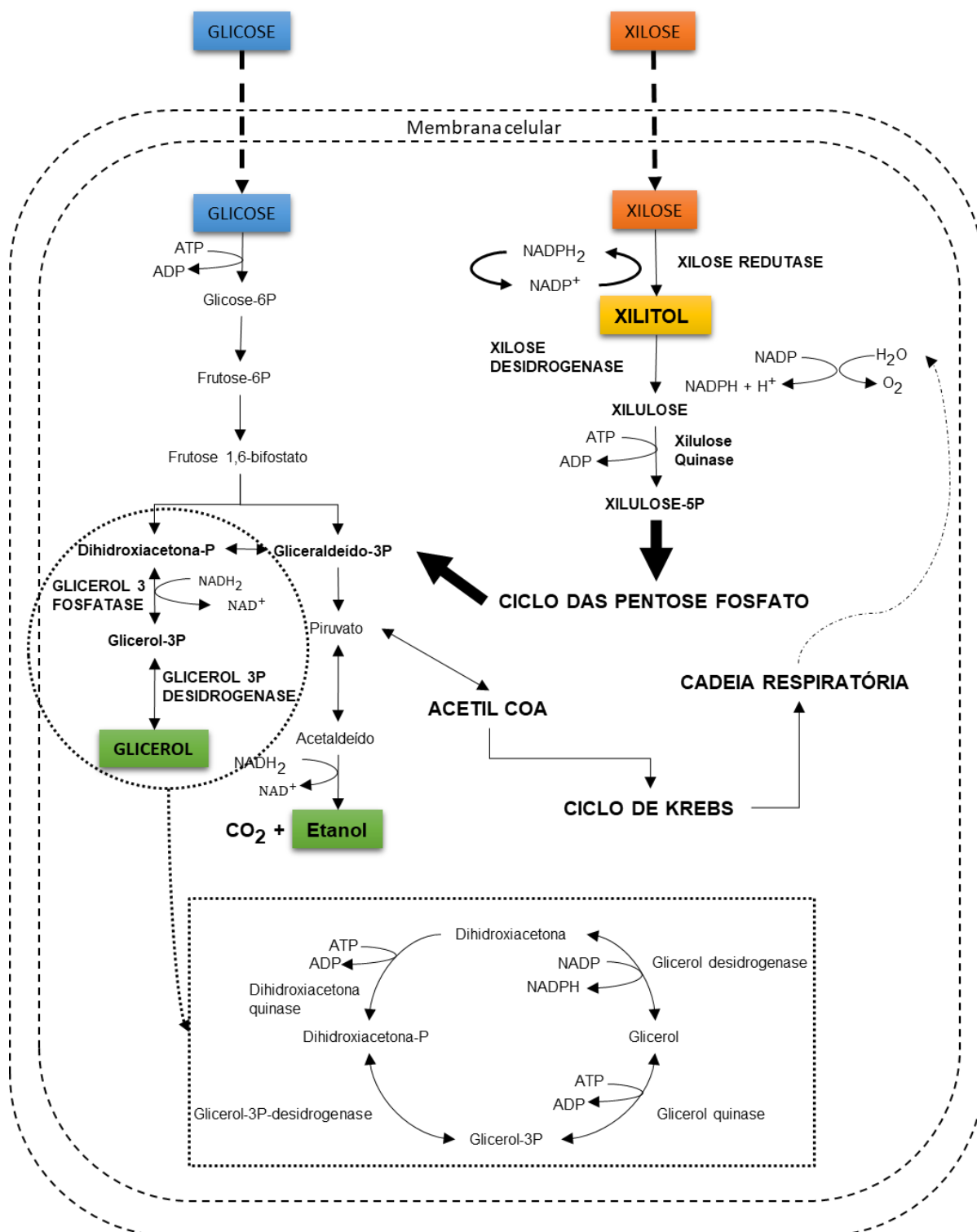
O transporte passivo inclui a difusão simples (permeação não específica) e a difusão facilitada por proteínas localizadas nas camadas mais internas da membrana plasmática, as permeases. Na difusão simples, o ATP não é dependente e requer um gradiente de concentração para o transporte do substrato através da membrana (MOAT; FOSTER; SPECTOR, 2002).

A levedura do gênero *Candida* os usa dois tipos de sistema de transporte que depende do ambiente fisiológico do meio: em condições favoráveis, as células captam xilose por difusão facilitada enquanto o sistema de transporte ativo opera sob condições de nutrição esgotadas (AHUJA et al., 2020).

Uma vez presente no meio intracelular o glicerol pode ser fosforilado a glicerol-3-fosfato(G3P) ou convertido em dihidroxiacetona. Esta é, posteriormente, fosforilada em dihidroxiacetona fosfato com a formação de um NADH. Outra via alternativa para a obtenção de dihidroxiacetona fosfato é pela oxidação do glicerol-3-fosfato, produzido na célula, na qual ocorre a produção de uma molécula FADH₂. Tanto o NADH quanto o FADH₂, ambos produzidos na via metabólica do glicerol, são direcionados a mitocôndria para o ciclo do triácido carboxílico, no qual ocorre a produção de ATP e a reciclagem dos transportadores de elétrons (LAGES; SILVA-GRAÇA; LUCAS, 1999).

A via do glicerol também é importante para síntese de lipídios, sendo o principal soluto compatível em leveduras (NEVOIGT; STAHL, 1997). O seu acúmulo é assim crucial para a sobrevivência em altas concentrações de substrato e de sal (HOHMANN, 2009). Além disso, a acumulação de glicerol é também necessária para a célula sobreviver a temperaturas altas (37 °C) (SIDERIUS et al., 2000), em anaerobiose e estresse oxidativo (PAHLMAN et al., 2001). Sendo também largamente produzido em resposta à redução da atividade de água extracelular durante a regulação osmótica em leveduras (WANG et al., 2001). Portanto, este é considerado como um composto fundamental dentro do sistema metabólico de micro-organismos, onde atua como precursor de numerosos compostos, e como regulador de vários mecanismos bioquímicos intracelulares (LAGES, SILVAGRAÇA e LUCAS, 1999).

Figura 4 – Esquema simplificado da via metabólica de D-xilose em leveduras.



Fonte: Baseado em Silva et al. (2004), Matos (2004) apud Arruda (2007) e Silva e Oliveira (2013)

3.6 FATORES QUE INFLUENCIAM NA PRODUÇÃO DE XILITOL

Para o gênero *Candida*, a oxigenação é um dos fatores preponderantes na produção de xilitol a partir de xilose. Sob condições limitadas de oxigenação, não ocorre a reoxidação de todo NADH gerado na segunda reação do catabolismo, o que ocasiona um desbalanceamento no potencial REDOX da célula, com maior quantidade de cofatores reduzidos do que oxidados e, conseqüentemente, o acúmulo do produto – xilitol – de interesse (ALBUQUERQUE et al., 2014).

Dessa forma, sob condições limitadas de oxigênio, a xilose não é completamente metabolizada nas leveduras, levando à produção de xilitol e/ou etanol e glicerol, sendo estes dois últimos subprodutos do metabolismo de xilose. A formação dos mesmos vai depender dos cofatores das enzimas envolvidas nas reações de metabolização da xilose, assim como a regeneração de tais cofatores, de acordo com as condições de oxigênio empregadas ao longo do cultivo (PANAGIOTOU et al., 2005; MICHEL, 2007).

Também é importante se considerar a situação metabólica favorável para a produção de xilitol é aquela em que as enzimas Xilose reductase (XR) e Xilitol desidrogenase (XDH) estão associadas a cofatores diferentes, ou seja, NADPH na primeira reação e NAD⁺ na segunda. A baixa concentração de NAD⁺ diminui a oxidação do xilitol a xilulose, induzindo a excreção de xilitol ao meio de cultura (YABLOCHKOVA et al., 2004; MICHEL, 2007). Assim, mediante o controle da aeração do meio, pode-se “regular” a regeneração do cofator oxidado na via metabólica, propiciando uma maior taxa de conversão de xilose a xilitol, porém de forma a ainda permitir que uma parte da fonte de carbono seja consumida para a plasticidade celular (FOGEL, 2004).

A utilização de diferentes co-substratos também pode influenciar no desempenho do microrganismo que pode utilizar preferencialmente um determinado substrato em detrimento de outro (caso da utilização preferencial de glicose em relação à xilose, por exemplo), pois interferirem na afinidade do sistema de transporte dos mesmos para o interior da célula microbiana (CHEN et al., 2010; MARDAWATI et al., 2018).

Sendo conhecido que a glicose regula o metabolismo de xilose e sua interferência sobre a bioconversão de xilose em xilitol é dependente da sua concentração no meio de fermentação (FELIPE et al., 1993, ROSA et al., 1998, WALTHER et al., 2001, apud SILVA et al., 2004), verifica-se que o metabolismo desta

pode levar à formação dos subprodutos glicerol e etanol, o que poderia interferir na formação de xilitol (SILVA et al., 2004).

Jeon, Shin e Rogers (2011) ao avaliar a produção de xilitol a partir de uma cepa mutante de *Candida tropicalis*, utilizando glicerol como co-substrato obteve altos rendimentos de biomassa e de produto sob condições aeróbicas. Entretanto, segundo os mesmos autores, o aumento da concentração de xilose resultou em uma redução no rendimento de biomassa com base no consumo de glicerol, o que pode ser uma consequência do sistema de transporte ativo da levedura, o qual exige um maior consumo de energia metabólica para a absorção de xilose e possível secreção de xilitol, deixando pouca energia disponível para o metabolismo desta pentose (JEON; SHIN; ROGERS, 2011).

A presença de substratos mistos pode também pode interferir na via metabólica de XR e XDH, influenciando diretamente a captação de substrato. Tamburinia et al. (2010) ao avaliarem a atividade de XR e XDH em diferentes substratos para *Candida tropicalis* descobriram que a glicose inibiu de forma significativa a redução de xilose a xilitol, pois aciona mecanismos de repressão sobre xilose reductase (XR), devido à preferência do consumo de glicose, sendo mais rapidamente consumido pelo microrganismo em cultura de mista. Além disso, altas concentrações de glicose aumentam a produtividade volumétrica de xilitol devido ao aumento da produção de biomassa, mas com limitações, pois a via de produção de etanol também é fortalecida causando inibição do crescimento celular e diminuindo a produção de xilitol. Entretanto, ao adicionarem baixas concentrações de maltose, por exemplo, Tamburinia et al. (2010), constataram que houve um aumento significativo na formação de células e no acúmulo de xilitol, como mostra a Tabela 2.

Prabhu e colaboradores (2020), ao utilizarem concentrações reduzidas glicerol associado a xilose como substrato perceberam que a assimilação da mesma foi mais rápida que se utilizasse glicose. O glicerol sendo uma fonte de carbono mais reduzido do que os carboidratos tradicionais (glicose/sacarose/xilose) pode melhorar o fornecimento de equivalentes redutores NADPH, o que é benéfico para a formação de xilitol. Dessa forma, a concentração de outros tipos de substratos influencia no rendimento final de xilitol.

Há também uma gama de outros fatores que podem influenciar diretamente na atividade fermentativa no metabolismo em questão, como pH, temperatura, aeração, imobilização de células e concentração do inóculo. Parâmetros estes que devem ser

rigorosamente observados, pois se apresentarem valores dos níveis exigidos pelo microrganismo, tornam-se um ponto negativo, impossibilitando o crescimento microbiano (GHINDEA et al., 2010).

Tabela 2 – Fator de conversão e produtividade volumétrica de xilitol para diferentes microrganismos e fontes de substrato.

Microrganismo	Substrato (g/L)	$Y_{P/S}$ e $Q_{Pxilitol}$	Autores
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	(20) Xilose	0.27 (g/g _{xilose}) 4.28 ± 1.30 (g/L)	(ATZMULLER; ULLMANN; ZWIRZITZ, 2020)
	(50) Xilose + (30) Glicose	0.29 (g/g _{xilose}) 11.58 ± 0.13 (g/L)	
<i>Candida tropicalis</i>	(50) Xilose + (10) maltose	0.56 (g/g _{xilose}) 28.01 ± 0.35 (g/L)	TAMBURINIA et al., 2009)
	(55) Xilose + (28) Glicerol	0.97 (g/g _{xilose}) 53,2 (g/L)	

Fonte: AHUJA et al. (2020)

3.7 MODELAGEM MATEMÁTICA NA ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

A modelagem matemática de processos fermentativos pode ser definida como a tentativa de representar, através de equações matemáticas, princípios de conservação de massa e energia, associados às complexas transformações bioquímicas que ocorrem no processo e as velocidades com que essas transformações se processam. A capacidade de predição é determinada pela correlação entre os dados experimentais e o modelo que descreve os fenômenos que controlam o desempenho do processo. Entretanto, devido à complexidade dos processos reais (que envolvem as leis da físico-químicas, bioquímicas e genéticas), somada às limitações matemáticas e computacionais, os modelos são geralmente baseados na idealidade, que de forma geral fornecem uma representação fiel de apenas algumas propriedades do processo (SCHMIDELL et al., 2001; SILVEIRA; MAZUTTI; SALAU, 2016). Além disso, os modelos permitem organizar as informações a respeito do processo em conjunto e de forma coerente, determinar os componentes e suas interações em um sistema complexo, além de explicar o comportamento dos microrganismos sob determinadas condições (SCHMIDELL et al., 2001).

O objetivo principal da modelagem matemática e simulação, como ferramenta do desenvolvimento tecnológico de processos fermentativos, é prever o comportamento dinâmico e estacionário do processo, possibilitando a determinação das condições operacionais economicamente ótimas do sistema, auxiliando no projeto

e ajuste de algoritmos de controle, em que, o modelo matemático passa a ser integrante do mesmo (SCHMIDELL et al., 2001). Além disso, essa ferramenta também permite a prever a viabilidade do processo, considerando as condições de operação da etapa fermentativa.

Tochampa e colaboradores (2005), por exemplo, avaliaram o metabolismo celular da levedura *Candida mogii* para produção de xilitol utilizando meio contendo xilose e glicose. Essa análise permitiu a construção de um modelo matemático que pudessem prever a produtividade de xilitol, crescimento celular e consumo de substrato em meio de cultivo contendo dois substratos.

3.7.1 Classificação de modelos cinéticos de processos fermentativos

A complexidade de um modelo deve ser tal que ele descreva bem as variáveis que se deseja avaliar e consiga cumprir com as necessidades que seu futuro uso demanda (MESQUITA, 2011).

Segundo Schmidell e colaboradores (2001), os modelos matemáticos de processos fermentativos podem ser classificados em dois grandes grupos – Modelos entrada-saída, também chamados de Modelos Caixa Preta e Modelos fenomenológicos.

a) Modelos entrada-saída: estabelecem relações empíricas para correlacionar o efeito de variações nas variáveis de entrada, como concentrações iniciais de sistemas em batelada ou das vazões de alimentação dos sistemas contínuos, nos valores das variáveis de saída, como o perfil de concentrações no interior do biorreator ao longo do tempo, ou seja, não importam os fenômenos que ocorrem durante o processo, os modelos fornecem os dados de saída a partir dos dados de entrada. Nesta categoria são incluídos os modelos construídos usando técnicas de inteligência artificial como as redes neurais artificiais e lógica *Fuzzy*.

b) Modelos fenomenológicos: Baseiam-se na formulação de hipóteses e correlações teóricas ou empíricas para explicar os fenômenos e o comportamento das variáveis do processo observadas experimentalmente. Dentro deste grupo os modelos cinéticos de processos fermentativos podem ser classificados tanto pelo número de componentes usados na representação celular (modelos não-estruturados e modelos estruturados) quanto pela heterogeneidade da população microbiana (modelos segregados e modelos não segregados).

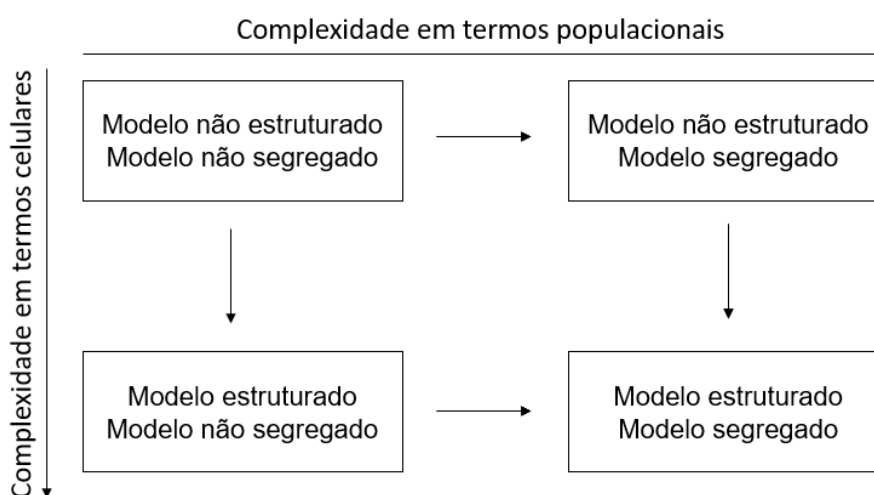
- Modelos não estruturados: o microrganismo é visto como uma espécie reagente simples, possivelmente com uma composição química fixa, sem considerar variações nos componentes intracelulares. Nesse tipo de modelo, procura-se uma equação geral para descrever o crescimento, onde o material celular é representado por uma única variável, por exemplo, a massa celular ou o número de células, sem considerar variações de componentes intracelulares, ou usar tais variações na previsão do comportamento cinético do processo.

- Modelos estruturados: as células são descritas com maiores detalhes, considerando, por exemplo, componentes intracelulares, permitindo descrever o estado das células e sua adaptação às mudanças do meio ambiente.

- Modelos não segregados: a população é considerada homogênea, isto é, todas células apresentam o mesmo comportamento, ou seja, consideram uniforme a população de um cultivo

- Modelos segregados: as células são consideradas discretas, como indivíduos de uma população heterogênea, com distribuição de idade, de tamanho e de propriedades celulares, ou seja, distinguem os diferentes tipos de células presentes no reator. A Figura 5 mostra de forma esquemática a variação da complexidade entre os diferentes tipos de modelo.

Figura 5 – Variação de complexidade dos tipos de modelos. A complexidade aumenta do canto superior esquerdo para o inferior direito



Fonte: Mesquita (2011)

Apesar dos modelos segregados e estruturados oferecerem uma descrição mais detalhada do comportamento cinético do processo fermentativo que os não segregado

e não estruturados, esse método requer maior complexidade e maior esforço computacional, em que muitos casos a qualidade e reprodutibilidade dos resultados obtidos não justificam a complexidade e a perda de generalidade introduzida (SCHMIDELL et al., 2001). A cinética de crescimento não estruturada – modelos não estruturados são adequados para condições de estado estacionário, mesmo quando há a incorporação de padrões complexos de crescimento. Entretanto, este tipo de modelo propicia ajuste adequado para um conjunto restrito de dados e raramente pode ser empregado em condições experimentais muito diferentes (NIELSEN; VILLADSEN; LIDÉN, 2003).

3.7.2 Modelos cinéticos

O modelo proposto por Dunn et al. (1992) é baseado na cinética de Monod aplicado para múltiplos substratos e pode ser utilizado para descrever a influência de dois substratos no crescimento celular, em que há preferência de consumo de um substrato em relação a outro, neste caso, o favorecimento de consumo de S_1 em relação a S_2 conforme é mostrada na Equação (1).

$$\mu_X = \frac{\mu_{xil}^{max} S_1}{K_{S,xil} + S_1} + \frac{\mu_{glic}^{max} S_2}{K_{S,glic} + S_2 + \frac{S_1^2}{K_{i,glic}}} \quad (1)$$

Já para descrever os modelos de consumo de substrato e a formação de produto, Tochampa et al. (2005) baseou-se no metabolismo da levedura *Candida mogii* e utilizou meio de cultivo contendo dois substratos para produção de xilitol. As considerações realizadas pelo autor para elaboração dos modelos de crescimento celular, consumo de substrato e formação de produto, foram:

- O modelo descrito pelo autor se enquadra como modelo não estruturado e não segregado;
- Considera condições ideais de crescimento, em que a taxa de crescimento é muito superior à taxa de morte;
- O consumo de xilose e do co-substrato está associada a concentração de biomassa.
- A formação de xilitol está ligada a concentração de biomassa.

• Altas concentrações de glicose inibem o transporte de xilose para a célula e reprimem a indução de enzimas relevantes neste metabolismo pois o transporte de ambos os açúcares usa o mesmo sistema de transporte (difusão facilitada), considera-se, portanto, inibição por substrato.

Os modelos descritos pelo autor para consumo de múltiplos substratos considerando o uso simultâneo de glicerol e xilose estão descritos nas equações (2) e (3):

$$q_{s(xil)} = q_{s(xil)}^{m\acute{a}x} \frac{S_1}{S_1 + K_{S,xil} \left(1 + \frac{S_2}{K_{i,glic}} \right)} \quad (2)$$

$$q_{s(glic)} = q_{s(glic)}^{m\acute{a}x} \frac{S_2}{S_2 + K_{S,glic} \left(1 + \frac{S_1}{K_{i,xil}} \right)} \quad (3)$$

3.7.3 Simulação

Os modelos matemáticos Dunn et al. (1992) e Tochampa et al. (2005) é constituído por um sistema de equações diferenciais ordinárias (EDOs) e a resolução dessas podem ser através do programa MATLAB®. Este software apresenta uma ampla variedade de funções matemáticas para resolução do sistema de equações algébrico diferencial. A rotina *ode15s* (abreviação para *ordinary differential equation 15 solver*) é uma função que usa métodos modernos de resolução de EDOs, baseados em um algoritmo de fórmulas de diferenciação numérica (NDF). O código *ode15s* usa um algoritmo de passos variáveis, ocasionando um ganho no tempo de simulação e também permite a convergência em sistemas de equações algébricas diferenciais com problemas de rigidez, a partir de um intervalo de integração definido (SANTOS, 2016).

3.7.4 Otimização

A otimização consiste em encontrar um valor extremo (mínimo ou máximo) para determinada função objetivo. Existem diversos métodos matemáticos diferentes para resolução de problemas de otimização, em que cada um deles apresente

características específicas que os tornam mais ou menos adequados a solução para um determinado caso (JARDIM, 2019).

A estimativa inicial escolhida é a entrada do sistema, e a partir dele realiza-se todo o processo de sucessivas iterações para encontrar o ponto ótimo. O simulador é responsável por fornecer o valor das forças de interação para qualquer ponto arbitrário. O otimizador, por sua vez, recebe os valores de saída do simulador e os processa de modo a obter o próximo passo no processo iterativo na direção de um ponto ótimo. Assim que o valor ótimo da função seja encontrado e obedeça ao critério de parada definido (restrições), o laço iterativo cessa (JARDIM, 2019).

Um dos otimizadores implementados no MATLAB, se caso utilizado para resolução da otimização, é composto pela função de minimização *fminsearch*, que aplica o algoritmo de Nelder-Mead, que utiliza o método *simplex*. Um *simplex* é uma figura geométrica que, em um espaço de N dimensões, é formada por $N+1$ pontos, os segmentos de linha que os conectam e as faces poligonais (JARDIM, 2019). Exemplos de *simplex* incluem um segmento de reta, triângulo e tetraedro nos espaços uni, bi e tridimensional, respectivamente (NOCEDAL e WRIGHT, 1999).

A utilização do *simplex* no método de Nelder-Mead ocorre da seguinte forma: em problemas unidimensionais, quando há um ponto de mínimo, é possível limitá-lo em um intervalo bem definido, mas isso não é possível em um espaço de dimensão N . Dessa forma, o algoritmo tenta guiar o *simplex* através de avaliações sucessivas da função nos pontos que o compõem, até encontrar um ponto de mínimo, em geral um mínimo local (JARDIM, 2019). Cada vértice do *simplex* está associado a um valor da função objetivo. Rejeita-se o vértice onde este valor é maior, o substituindo por outro (NOCEDAL e WRIGHT, 1999). Cada avaliação da função corresponde ao cálculo do valor da função objetivo em um ponto genérico na tentativa de encontrar um valor menor do que aqueles disponíveis no *simplex* (JARDIM, 2019). A função *fminsearch* recebe variáveis de entrada como ponto de partida, em que é gerado um *simplex* inicial, as funções objetivo a ser minimizadas e uma lista de critérios de parada (funções sujeitas a restrições). Nos problemas analisados no presente, o ponto de início para a *fminsearch* é o vetor que contém os valores iniciais das concentrações no tempo (JARDIM, 2019).

3.7.4.1 Ajuste de curvas

Ajuste de curvas é uma família de técnicas matemáticas que buscam encontrar padrões de comportamento num conjunto de dados. O objetivo é estudar o fenômeno físico na forma de uma tendência. Havendo a possibilidade de se traçar uma reta ou curva, pode-se fazer previsões. Essas previsões, quando internas ao grupo de dados original, podem ser chamadas de interpolações. Quando externas, dá-se o nome de extrapolações. Em ambos os casos, existe a necessidade de controles estatísticos para aferir a qualidade dessas inferências (ÁVILA, 2019).

Uma das possíveis estratégias para ajustar melhor a reta seria utilizar o critério *minimax*. Nessa técnica é escolhida a reta que minimize a distância máxima que um ponto individual tenha da reta. Dessa forma, uma das possíveis abordagens seria a minimização da soma dos quadrados dos resíduos entre o valor medido e o calculado com o modelo linear (CHAPRA; CANALE, 2008).

A otimização é busca do valor de uma variável ou de múltiplas variáveis, que proporcionam o melhor resultado para uma função dependente destas variáveis. Nesse caso, o objetivo é aproximar ao máximo os valores das concentrações observados dos calculados pelo o modelo, e essa aproximação é realizada através minimização da função objetivo (CELESTE; CHAVES, 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foi utilizado o método de modelagem e simulação como forma de prever a bioconversão de xilose em xilitol pela levedura *C. guilliermondii* FTI20037 utilizando glicerol como co-substrato, tomando como base os dados da dissertação de Arruda (2007) e baseando-se nas equações cinéticas de Dunn et al. (1992) e Tochampa et al. (2005).

4.1 MODELAGEM MATEMÁTICA DO PROCESSO FERMENTATIVO

Para realizar a simulação e analisar a possível viabilidade dos modelos foram utilizados os dados experimentais das concentrações de biomassa, substrato e produto obtidos na dissertação de Arruda (2007), a qual avaliou a influência da adição de diferentes concentrações de glicerol durante a bioconversão de xilose em xilitol por *C. guilliermondii*. As informações contidas na Tabela 3, são referentes as concentrações iniciais encontradas no tempo zero do bioprocessos.

Tabela 3 – Dados experimentais das concentrações iniciais de células, substratos e produto.

Condições	Células (g/L)	Glicerol (g/L)	Xilose (g/L)	Xilitol (g/L)
I	0,89	0,00	54,61	0,55
II	1,40	0,20	53,07	0,27
III	1,39	0,64	53,98	0,34
IV	0,89	1,24	54,03	0,27
V	1,01	3,33	54,21	0,00
VI	1,03	6,59	55,70	0,00

Fonte: Arruda (2007)

A fim de realizar a simulação dos modelos referentes a concentração de biomassa e de substratos consumidos foram consideradas as mesmas hipóteses elaboradas por Tochampa et al. (2005), em que se considera o meio de cultivo contendo mais de um substrato sendo assimilado pela levedura *Candida mogii* para produção de xilitol, sendo possível a substituição de glicose por glicerol como co-substrato, considerando que o metabolismo de bioconversão da *C. mogii* seja semelhante a *C. guilliermondii*. As taxas de crescimento celular e de assimilação de xilose (S_1) e glicerol (S_2), respectivamente, estão diretamente relacionadas com a concentração de biomassa (C_x), conforme descrito nas equações (4), (5) e (6):

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu_x C_x \quad (4)$$

$$\frac{dS_1}{dt} = -q_s(xilose) C_x \quad (5)$$

$$\frac{dS_2}{dt} = (-q_s(glicerol) C_x) + (a C_x) \quad (6)$$

Para o consumo de glicerol é considerada a variável a , que é a fração da concentração de glicerol produzido. O glicerol é um subproduto do metabolismo da levedura *C. guilliermondii*, sendo, portanto, a Equação (6) modificada em relação a original.

Assim, como o crescimento celular e consumo de substrato, a formação de produtos por meio da fermentação também está diretamente relacionado ao crescimento microbiano (PIAZZI, 2019). O modelo da concentração de xilitol (Equação 7), foi obtido através do balanço de massa entre a assimilação de glicerol, xilose e o crescimento celular:

$$\frac{dP}{dt} = (q_s(xilose) + q_s(glicerol)) C_x - (b C_x) \quad (7)$$

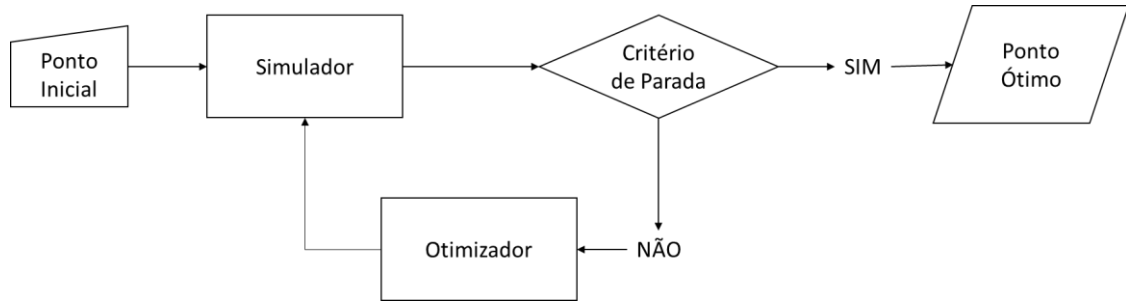
Em que b representa a fração de concentração de células produzidas durante o processo fermentativo somados a concentração de glicerol formado. A equação (7) também é modificada para atender a condições fermentativas dos dados experimentais.

4.2 PROCESSO DE SIMULAÇÃO E OTIMIZAÇÃO

A partir dos modelos representados nas Equações (1) a (7), utilizou-se a rotina *ode15s* do programa MATLAB® para resolução das EDOs das concentrações de biomassa e xilitol gerados e de xilose e glicerol consumidos durante o processo fermentativo.

A Figura 6 mostra a operação das ferramentas de simulação e otimização para a obtenção de um valor ótimo que possa se adequar aos pontos da curva experimental. Isso se dá principalmente por meio do ajuste dos parâmetros da ferramenta aos dados.

Figura 6 - Representação do diagrama de blocos do processo de simulação e otimização



Fonte: Jardim (2019)

- Ponto Inicial: Entrada das condições experimentais I, II, III, IV, V, VI nos tempos 0,10, 24, 34, 48, 58 e 72 horas;
- Simulador: Entrada dos dados experimentais obtidos em cada tempo, das equações (1) ao (7) e dos parâmetros descritos na Tabela 4. E saída das resoluções das EDOs pela rotina *ode15s* dentro do intervalo de integração;
- Critério de parada: Os valores obtidos pelo simulador devem ser próximos aos pontos de concentração em cada tempo para células, substratos e produtos;
- Otimizador: Caso não atinja esse critério, o otimizador composto pela rotina *fminsearch* lê a entrada dos dados do simulador e realiza a minimização da função objetivo por iteração para obter o valor ótimo.

4.2.1 Função Objetivo (S)

Para realizar o ajuste das curvas foi necessário minimizar a soma dos quadrados dos resíduos entre o y medido e o y calculado pelo modelo (CHAPRA; CANALE, 2008), conforme descrito pela Equação 8

$$S = \frac{1}{n} \sum_j^n (y_{i,medido} - y_{i,modelo})^2 \quad (8)$$

Em que:

$y_{i,medidos}$ = valores experimentais das concentrações no tempo

$y_{i,modelo}$ = valores preditos das concentrações de C_x, S_1, S_2 e P

n = maior valor das concentrações de cada condição analisada.

4.2.2 Coeficiente de determinação (R^2)

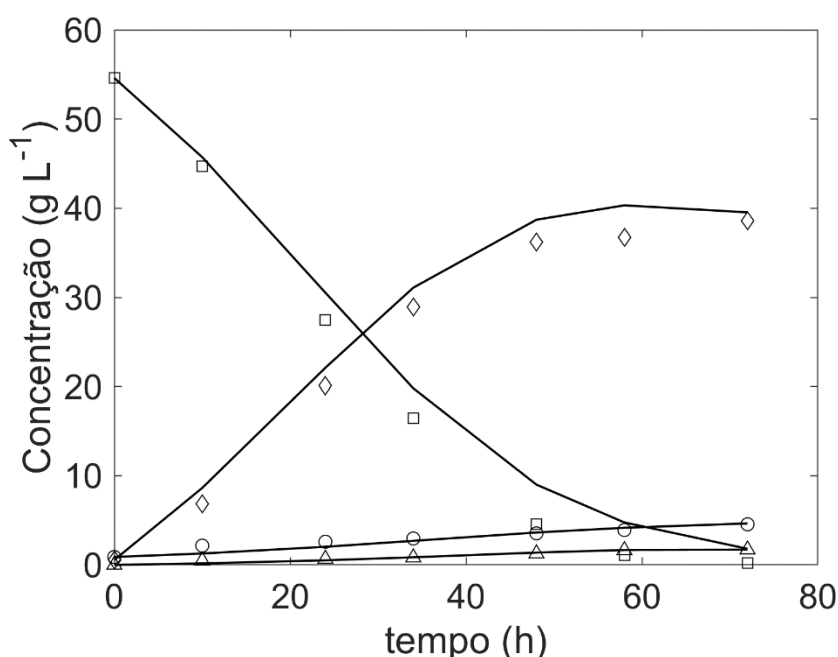
O coeficiente de determinação representa a dimensão da variação total dos dados em torno da média dos valores da variável dependente. Pode ser interpretado como a indicação do quão preciso é o modelo para explicar a variável dependente y (ALMEIDA, 2015).

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum y_i^2 - \frac{1}{n} (\sum_{i=1}^n y_i)^2} \quad (9)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

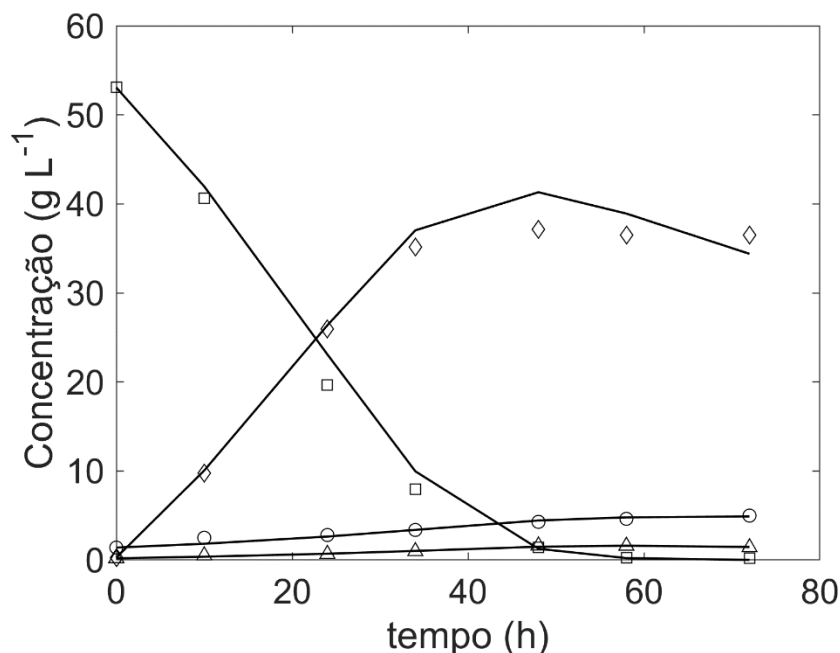
A seguir serão apresentados os resultados dos ajustes para os perfis de concentrações de xilose, xilitol, biomassa e glicerol, representadas nas Figuras de 7 a 12. Observa-se que os perfis cinéticos de concentração obtidas por meio do modelo proposto foram capazes de se ajustar aos dados observados.

Figura 7 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição I.



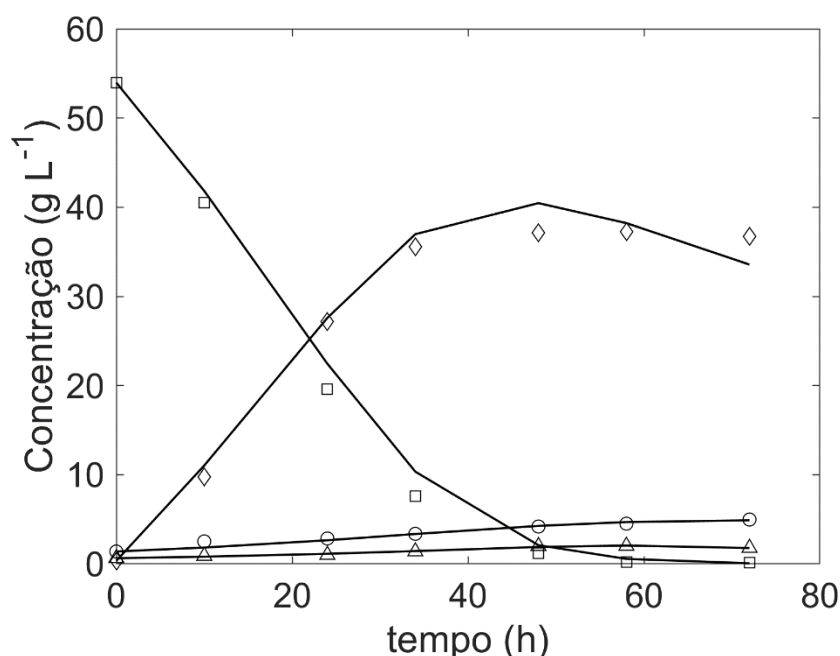
Concentrações iniciais: 0,89 g/L (células), 0,00 g/L (glicerol), 54,61 g/L (xilose), 0,55 g/L (xilitol).
 Dados experimentais – Células (○); Glicerol (△); Xilose (□) e Xilitol (◇). As linhas solidas representam as curvas da simulação.
 Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 8 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição II.



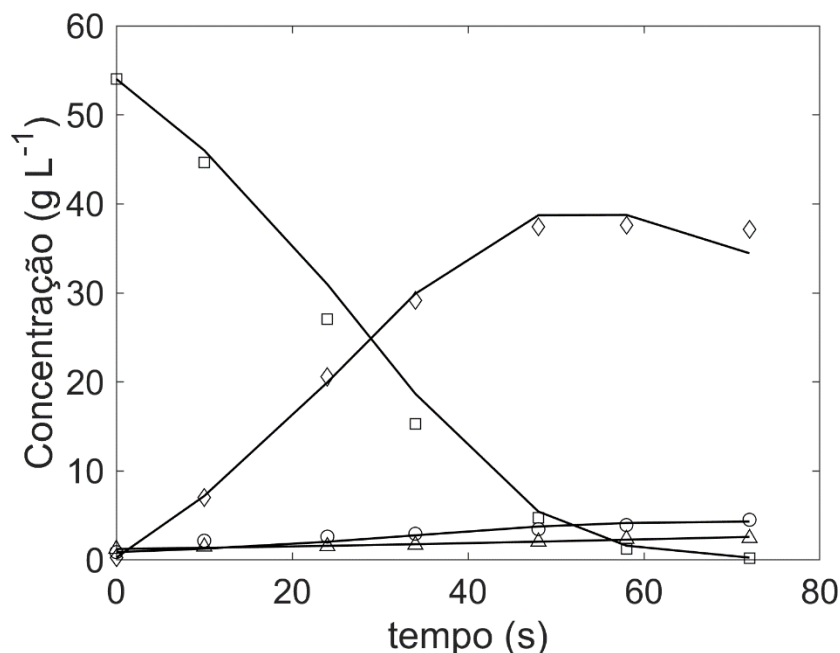
Concentrações iniciais: 1,40 g/L (células), 0,20 g/L (glicerol), 53,07 g/L (xilose), 0,27 g/L (xilitol).
 Dados experimentais – Células (○); Glicerol (△); Xilose (□) e Xilitol (◇). As linhas sólidas representam as curvas da simulação.
 Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 9 - Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição III.



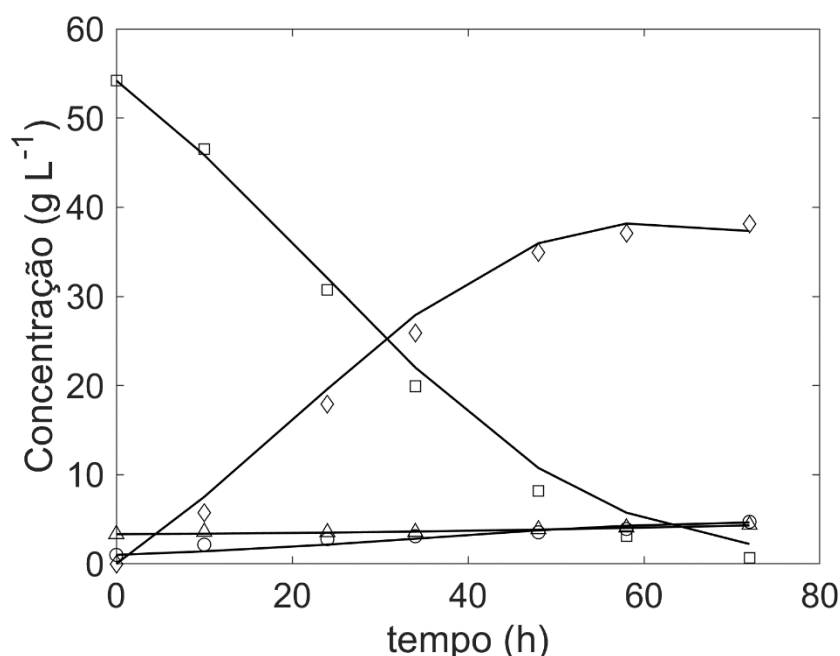
Concentrações iniciais: 1,39 g/L (células), 0,64 g/L (glicerol), 53,98 g/L (xilose), 0,34 g/L (xilitol).
 Dados experimentais – Células (○); Glicerol (△); Xilose (□) e Xilitol (◇). As linhas sólidas representam as curvas da simulação.
 Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 10 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição IV.



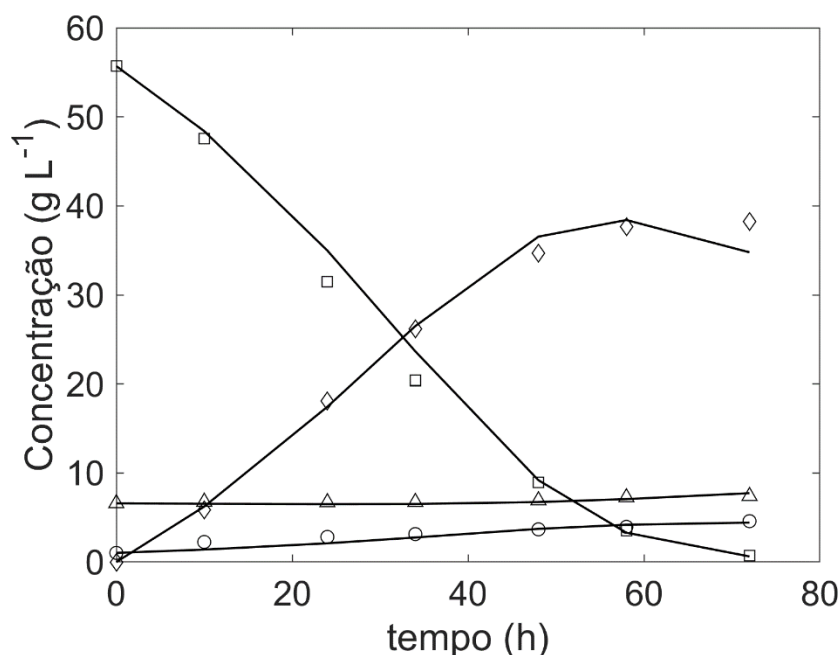
Concentrações iniciais: 0,89 g/L (células), 1,24g/L (glicerol), 54,03 g/L (xilose), 0,27 g/L (xilitol).
 Dados experimentais – Células (○); Glicerol (△); Xilose (□) e Xilitol (◇). As linhas solidas representam as curvas da simulação.
 Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 11 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição V.



Concentrações iniciais: 1,01 g/L (células), 3,33 g/L (glicerol), 54,21 g/L (xilose), 0,00 g/L (xilitol).
 Dados experimentais – Células (○); Glicerol (△); Xilose (□) e Xilitol (◇). As linhas solidas representam as curvas da simulação.
 Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 12 – Ajuste entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais referentes a condição VI.



Concentrações iniciais: 1,03 g/L (células), 6,59 g/L (glicerol), 55,70 g/L (xilose), 0,00 g/L (xilitol).
 Dados experimentais – Células (○); Glicerol (△); Xilose (□) e Xilitol (◇). As linhas sólidas representam as curvas da simulação.
 Fonte: Próprio autor (2021)

Tabela 4 – Resultados da otimização dos ajustes nos perfis das condições I, II, III, IV, V e VI

Perfis	R^2					
	I	II	III	IV	V	VI
Células	0,9667	0,9833	0,9823	0,9563	0,9624	0,9574
Glicerol	0,9830	0,9904	0,9903	0,9834	0,9761	0,9264
Xilose	0,9987	0,9979	0,9984	0,9973	0,9995	0,9974
Xilitol	0,9983	0,9929	0,9919	0,9961	0,9978	0,9942
S	48,47	45,45	42,20	38,90	33,16	34,95

Fonte: Próprio autor (2021)

O modelo previu de forma satisfatória o perfil de concentração do consumo de xilose no intervalo de tempo analisado, com o R^2 sendo maiores que 0,99 para todas as condições analisadas. Entretanto nos períodos entre 24 a 48 horas nas condições II e III (Figuras 8 e 9), a curva dos modelos é superior aos dados experimentais, com tendência de queda a partir de 48 horas. Segundo Arruda (2007), adição de glicerol de 0,34 e 0,64 g/L favorece o consumo mais acelerado de xilose, sendo observado uma queda acentuada nas curvas e esse aumento da velocidade não foi seguido pelo comportamento nos perfis obtidos. Segundo Lages, Silva-Graça e Lucas (1999), o

glicerol atua como regulador de vários mecanismos bioquímicos intracelulares podendo facilitar a assimilação de xilose em concentrações ótimas.

Nas condições IV, V e VI (Figuras 10, 11 e 12) os perfis de consumo de xilose apresentam melhores ajustes, apesar de que em todos os casos as predições sejam superiores aos dados experimentais. Tal comportamento indica uma redução na velocidade de assimilação de xilose, a qual não foi acompanhada pela curva gerada pelos modelos. Sugerindo uma competição entre os substratos pelo mecanismo de transporte das células, devido a maior disponibilidade de glicerol no meio resultando na diminuição de velocidade no consumo de xilose, indicando efeito inibitório do glicerol no metabolismo e assimilação da xilose. Em relação a condição I (Figura 7) houve um consumo mais lento de xilose nos dados observados do que nos preditos, havendo queda mais expressiva no intervalo de 34 a 58 horas. Arruda (2007) observou uma redução na velocidade de consumo de xilose no meio ausente de adição de glicerol, isso pode indicar um desvio para a formação de glicerol, já este subproduto é regulador de vários mecanismos bioquímicos intracelulares e auxilia na regulação osmótica em leveduras.

Com relação ao ajuste dos perfis das concentrações de xilitol para todas as condições, este foi satisfatório, com o R^2 maiores que 0,99 para todas as condições analisadas. Contudo, as curvas das predições permaneceram acima na maioria dos pontos experimentais. Esse comportamento pode ser atribuído ao ajuste promovido pela otimização do modelo e pelo desvio metabólico para a formação de células. Na condição I (Figura 7), esse aumento permaneceu durante todo o período, estabilizando em 72 horas. Para as condições II e III (Figura 8 e 9), houve uma subida acentuada entre os intervalos de 34 a 48 horas, permanecendo acima dos dados observados, mas com tendência de queda. Segundo Arruda (2007), as condições de maior favorecimento de formação de xilitol foram nas condições II e III, devido as concentrações mais reduzidas do co-substrato. Esse efeito pode ser causado devido ao aumento do consumo de xilose, em virtude das concentrações ideais de glicerol no meio, onde o substrato é direcionado para outras vias metabólicas, como para formação de células. Referente aos perfis IV, V e VI (Figura 10, 11 e 12), as predições dos modelos foram mais ajustadas, mas com variações no decréscimo nas curvas no tempo final da fermentação, indicando que o modelo prevê uma queda de produtividade a partir desse período, já que a curva obtida pelo modelo permanece

abaixo dos dados experimentais, que se mantem estáveis, indicando imprecisão do modelo a partir 72 horas

Em relação aos perfis de concentração de biomassa, o modelo proposto obteve menor ajuste, com variações mais significativas nos valores do R^2 para todas as condições analisadas. Esse comportamento pode ser explicado devido as alterações das concentrações iniciais de glicerol e xilose, que promoveram certa imprevisibilidade, ocasionando uma diminuição da precisão do modelo, conforme mostra a Tabela 5. Segundo Jeon, Shin e Rogers (2011) isso pode ser uma consequência do sistema de transporte ativo da levedura, exigindo maior consumo de energia metabólica para a absorção de xilose e do co-substrato, intercalado com uma possível secreção de xilitol, deixando pouca energia disponível para o metabolismo voltados a produção de celular, promovendo inconstância na formação de biomassa.

Para os perfis de glicerol, o modelo proposto também previu o comportamento de produção do co-substrato para todas as condições analisadas, apesar das variações. Sendo consumido nas primeiras 10 horas nas condições II, III e V e produzido durante todo o processo fermentativo para demais condições. A diminuição do ajuste a curva experimental em comparação com a obtida pode ser relacionada a variação da produção de glicerol em relação adição deste no meio de cultivo e o desvio metabólico para outras funções metabólicas, como a excreção de xilitol e a produção de biomassa.

Já os perfis das condições V e VI (Figuras 11 e 12) foram os que menos se ajustaram com as previsões do modelo, devido a uma baixa formação glicerol em relação a concentração inicial do mesmo. Para a última condição o R^2 foi de 0,9264, indicando imprecisão do modelo com a elevação da presença do glicerol no meio. Arruda (2007) constatou que a concentração de glicerol na condição I foi 52% maior do que na condição VI, sendo assim, o aumento da concentração do co-substrato não influenciou de maneira significativa a sua formação, essa característica pode intervir na redução de previsão do modelo, conforme mostra a Tabela 5.

Ao analisar a Tabela 5 é possível observar que os perfis de concentração se adequam aos modelos analisados no presente trabalho. O R^2 mais próximo de 1 indica que os modelos propostos possuem uma boa qualidade nos ajustes as condições experimentais analisadas e predizem de maneira satisfatória as curvas de concentração de células, glicerol, xilose e xilitol. As condições II e III foram mais

promissoras em relação as demais, devido ao melhor ajuste dos perfis. Nessas condições, as concentrações de glicerol foram ótimas, pois obtiveram maiores maior produção de biomassa e xilitol, bem como resultou na maior velocidade de consumo de xilose, indicando uma melhor aplicabilidade dos modelos.

Ao avaliar os modelos matemáticos relacionados a inibição por produto para prever a produção de biomassa, consumo de substrato e formação de ácido láctico pela levedura *Lactococcus lactis* em cultura batelada, Zacharof e Lovitt (2013), encontraram valores de R^2 entre 0,97 a 0,99. De acordo com estes, os valores descritos são um indício de que os modelos utilizados previram de maneira satisfatória o comportamento dos dados observados.

Em relação a minimização da função objetivo (S) descrita pela Equação (8) para todas as condições, foi observado que os valores dos somatórios dos resíduos, representando o erro total da diferença entre a proximidade dos dados observados com os dados obtidos para todas as condições foi baixo, sendo que os valores reportados não variam de maneira significativa. Isso indica que os valores de concentração previstos pelos modelos condizem com o comportamento os dados observados.

A estimação dos parâmetros foi realizada através do ajuste dos modelos pela minimização da função objetivo descrita pela Equação (8) aos dados experimentais do consumo de xilose e formação de glicerol, xilitol e biomassa, resultando nos valores discriminados na Tabela 5. Em que para a condição em que não há adição de glicerol (Tabela 3), ou seja, que a xilose é o único substrato presente no meio cultivado, os parâmetros μ_{glic}^{max} , q_{glic}^{max} foram igualados a zero e $K_{i,glic} = 1$.

Tabela 5 – Parâmetros otimizados utilizados para ajuste dos modelos

Parâmetros	Valor	Unidades
μ_{glic}^{max}	0,03	1/h
μ_{xil}^{max}	0,039	1/h
q_{xil}^{max}	0,46	$g_{xilose} / g_{células} h$
q_{glic}^{max}	0,34	$g_{glicerol} / g_{células} h$
$K_{s,xil}$	11,761	g/L
$K_{s,glic}$	4,2	g/L
$K_{i,xil}$	14,780	g/L
$K_{i,glic}$	0,65	g/L
a	0,01	-
b	0,03	-

Fonte: Próprio autor (2021)

Os dados encontrados na literatura referentes a velocidade específica de crescimento celular de xilose e glicerol condizem com os parâmetros otimizados. Entretanto, devido diferentes variáveis que influenciam o processo fermentativo, os valores podem ser muito diferentes. Poccia, Beccaria e Dondo (2014), avaliaram o crescimento de *Escherichia coli* em meio contendo glicerol e glicose como co-substrato encontraram o valor de μ_{glic}^{max} entre 0,35 e 0,65 1/h. Já para Rastogi e colaboradores (2013) que utilizaram *Bacillus* e *Clostridium* para a produção de etanol na presença de glicerol, xilose e glicose encontraram valores de μ_{glic}^{max} entre 0,031 a 0,048 1/h. Em relação a μ_{xil}^{max} para levedura *C. guilliermondii*, segundo Aguiar et al. (2002), os valores estão é geralmente entre 0,2 e 0,5 1/h, considerando apenas xilose como fonte de carbono. No entanto, em outras obras, o valor tem sido abaixo do que foi relatado anteriormente. Aranda-Barradas, Delia e Riba (2000) avaliaram a levedura *C. parapsilosis* para a produção de xilitol em meio sintético obtiveram o μ_{xil}^{max} entre 0,1 a 0,13 1/h e Pappu e Gummadi (2016) ao utilizarem *Debaryomyces nepalensis* em meio sintético encontraram valores ainda menores, entre 0,029 a 0,078 1/h.

Os valores encontrados na literatura em relação a velocidade específica de consumo de xilose e glicerol também são próximos aos obtidos pela otimização dos parâmetros. De acordo com Saitoh e colaboradores (2010) ao utilizar *Saccharomyces cerevisiae* em meio contendo diferentes concentrações de xilose e celobiose, encontraram valores de q_{xil}^{max} entre 0,15 e 0,59 g/g h. Em relação as constantes de

saturação e inibição de xilose $K_{s,xil}$ e $K_{i,xil}$, os valores foram obtidos no trabalho de Tochampa et al. (2005), considerando xilose e glicose como co-substrato.

Para as constantes de inibição de xilose e glicerol, os valores encontrados na literatura também condizem com os dados otimizados da Tabela 5. Poccia, Beccaria e Dondo (2014) avaliaram a $K_{i,glíc}$ e encontram valores entre 0,35 a 0,65 g/L, sendo o último valor utilizado como parâmetro para ajuste do modelo proposto. Segundo os autores, o crescimento celular foi mais lento em maiores concentrações de glicerol, podendo indicar inibição por substrato. Já Claret, Bories e Soucaille (1992) ao avaliar a produção de diidroxiacetona por *Gluconobacter oxydans* utilizando glicerol como substrato encontraram valores de $K_{s,glíc}$ entre 4,2 e 7,1 g/L.

6. CONCLUSÃO

O modelo proposto baseado nas equações cinéticas de Dunn et al. (1992) e Tochampa et al. (2005) em condições de cultivo utilizando o glicerol como co-substrato visando a obtenção de xilitol durante a bioconversão de xilose por *Candida guilliermondii* foi considerado satisfatório. De acordo com os resultados, verificou-se que o modelo pode prever as curvas de concentração de produção de biomassa, xilitol e glicerol e o consumo de xilose, considerando este metabolismo.

Para os perfis das concentrações de xilitol, a curva do modelo se manteve acima da maioria dos dados observados para todas as condições. Esse comportamento pode ser atribuído ao ajuste promovido pela otimização do modelo e pelo desvio metabólico para a formação de células. Nas condições de maior favorecimento na produção de xilitol, as curvas dos modelos eram menos previsíveis do que nas demais condições. Esse efeito pode ser causado pelo maior consumo de xilose, devido a concentrações mais favoráveis de glicerol no meio, em que o substrato é direcionado para outras vias metabólicas, como para formação de células.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C. L.; OETTERER M.; MENEZES, T. J. Caracterização e aplicações do xilitol na indústria alimentícia. **Boletim SBCTA**. v. 33, n. 2, p. 184-193, 1999.
- AGUIAR, W.B. et al. Growth model and prediction of oxygen transfer rate for xylitol production from d-xylose by *C. guilliermondii*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 12, p. 49–59, 2002.
- ÁVILA, S. L. **Cálculo numérico aplicado à engenharia elétrica com MATLAB**. 1 ed. Florianópolis, SC: Publicações do IFSC, 2019.
- AHUJA, V.; MACHO, M.; EWE, D.; SINGH, M.; SAHA, S.; SAURAV, K. Biological and Pharmacological Potential of Xylitol: A Molecular Insight of Unique Metabolism. **Foods**, v. 11, n.9, p. 1592, novembro, 2020.
- ALMEIDA, R. N. **O Método dos mínimos quadrados: estudo e aplicações para o ensino médio**. 67f. 2015. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, 2015.
- ARANDA-BARRADAS, J.S.; DELIA, M. L.; RIBA, J. P. Kinetic study and modelling of the xylitol production using *Candida parapsilosis* in oxygen-limited culture conditions. **Bioprocess Engineering**, v. 22, p. 219– 225, 2000.
- ATZMULLER, D.; ULLMANN, N.; ZWIRZITZ, A. Identification of genes involved in xylose metabolism of *Meyerozyma guilliermondii* and their genetic engineering for increased xylitol production. **Amb. Express**, v. 10, n. 78, abril, 2020.
- ALBUQUERQUE, D. T. L., DA SILVA, I. J., DE MACEDO, G. R., ROCHA, M. V. P. Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: **A review**. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 11, p. 1779-1789, 2014.
- ANSELL, R.; GRANATH, K.; HOHMANN, S.; THELVELEIN, J. M.; ADLER, L. The two isoenzymes for yeast NAD⁺-dependent glycerol 3-phosphate dehydrogenase encoded by GPD1 and GPD2 have distinct roles in osmoadaptation and redox regulation. **EMBO Jornal**, v. 16, p.2179-2187, 1997.
- ARRUDA, P. V de. **Efeito do glicerol na bioconversão de xilose em xilitol pela levedura *Candida guilliermondii* FTI 20037**. 75 f. 2007. Dissertação (Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, SP, 2007.
- ARRUDA, P. V. et al. Scale up of xylitol production from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *Candida guilliermondii* FTI 20037. **J Ind Eng Chem**, v. 47, p. 297-302, 2017.
- ASANO, C. T. S. **Importância do uso de xilitol para as indústrias alimentícias e farmacêuticas**. 2014. 57f. Monografia – Escola de Engenharia Química de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

BAILEY, J. E. Mathematical Modeling and Analysis in Biochemical Engineering: Past Accomplishments and Future Opportunities. **Biotechnology Progress**, v. 14, p. 8-20, 1998.

BAR, A. Xylitol. In: O'BRIEN NABORS L., GELARDI, R. **Alternative Sweeteners**. New York: Marcel Dekker, p. 185-216. 1986.

CARNEIRO, V. G. C. C. **Prospecção de leveduras para produção de xilitol a partir de hidrolisados de biomassa de cana**. 85f. 2018. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2018.

CELESTE, A. B.; CHAVES, V. S. Avaliação de Algoritmos de Otimização e Funções Objetivo para Calibração Automática do Modelo Chuva-Vazão Tank Model. **Ciência e Natura**, v. 36, n. 3, p. 527-537, 2014.

CHAPRA, Steven C. **Métodos numéricos para engenharia**. 5. ed. São Paulo, SP: McGraw-Hill, 2008

CHEN, X., JIANG, Z. H., CHEN, S., QIN, W. (2010). Microbial and bioconversion production of D-xylitol and its detection and application. **International Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 7, p. 834, 2010.

CHENG, K. K. et al. Optimization of pH and acetic acid concentration for bioconversion of hemicellulose from corncobs to xylitol by *Candida tropicalis*. **Biochem Eng J**, v. 43, p.2, p. 203-207, 2009.

CHUN-HUI, C. Z.; BELTRAMINI, J. N.; FAN, YONG-XIAN.; LU, M. G. Q. Chemoselective Catalytic Conversion of Glycerol as a Biorenewable Source to Valuable Commodity Chemicals. **Chemical Society Reviews**, n. 37, p. 527-549, 2008.

CLARET, C.; BORIES, A.; SOUCAILLE, P. Glycerol Inhibition of Growth and Dihydroxyacetone Production by *Gluconobacter oxydans*. **Current Microbiology**, v. 25, p. 149-155, 1992.

CORTEZ, D. V. **Influência dos Produtos de Degradação da Lignina na Bioconversão de Xilose em Xilitol por *Candida guilliermondii***. 2005. 128 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia Química de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2005.

CUNHA, M.A.A. (2006) **Bioprodução de xilitol a partir de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar em sistemas com células de *Candida guilliermondii* imobilizadas em hidrogéis de álcool polivinílico**. 215f. 2006 Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, 2006.

DASGUPTA, D. *et al.* Challenges and prospects of xylitol production with whole cell bio-catalysis: **A review**. **Microbiol Res**. v.197, p. 9-21, 2017.

DILLS, S.S.; APERSON, A.; SCHIMIDT, M.R.; SAIER, M. H. Carbohydrate transport in bacteria. **Microbiology Reviews**, v. 44, p. 385-418, 1980.

DUNN, I. J.; HEINZLE, E.; INGHAM, J.; PRENOSIL, J. E. **Biological Reaction Engineering**, 1992.

FELIPE, M. G. A; ANCILHA, I. M.; VITOLO, M., ROBERTO, I. C.; SILVA, S. S. ROSA, S. A; Preparation of xylitol by fermentation of a hydrolyzate of hemicellulose obtained from sugarcane bagasse. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 36, n. 1, p. 103-114, 1993.

FOGEL, R. **Otimização da hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar e utilização do hidrolisado na produção de xilitol por *Candida guilliermondii***. 2004. Dissertação (Mestrado) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

FRANÇOSO, L. D. O. “**Xilitol: um edulcorante diversificado e benéfico para a saúde humana – Uma Revisão Bibliográfica.**” 54f. 2015. Monografia (Química) – Universidade estadual paulista, Bauru, 2015.

FREDRICKSON, A.G; MEGEE, R. D.; TSUCHIYA, H. M. Mathematical Models for Fermentation Process. **Advances in Applied Microbiology**, v. 13, p 419-465, 1970.

GALES, M. A, NGUYEN, T. Sorbitol compared with xylitol in prevention of dental caries. **Ann. Pharmacother.**, v.34, p.98-100, 2000.

GANCEDO, C.; GANCEDO, J. M.; SOLS A. Glycerol Metabolism in Yeasts. **European Journal of Biochemistry**, v. 6, n. 2, p. 165-172, 1968.

GARCIA, J. F. et al. Xylitol production from olive-pruning debris by sulphuric acid hydrolysis and fermentation with *Candida tropicalis*. **Holzforschung**, v. 65, n. 1, p. 59-65, 2011.

GASMI, B. *et al.* Health benefits of xylitol. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 104, p. 7225–7237, 2020.

GRANSTRÖM, T. B., IZUMORI, K., LEISOLA, M. (2007). A rare sugar xylitol. Part I: the biochemistry and biosynthesis of xylitol. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 74, p. 273-276, 2007.

GRASTRÖM, T.B.; IZUMORI, K.; LEISOLA M. A rare sugar xylitol. Part I: The biochemistry and biosynthesis of xylitol. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 74, n. 2, p.277-281, 2007.

HOHMANN, S. Characterisation of PDC2, a gene necessary for high level expression of pyruvate decarboxylase structural genes in *Saccharomyces cerevisiae*. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 241, n. 5-6, p. 657-66, 2009.

HYVÖNEN, L.; KOIVISTONEN, P. Food technological evaluation of xylitol. **Advances in Food Research**, v.28, p. 373-403, 1982.

ITO, T. et al. Hydrogen and ethanol production from glycerol-containing wastes discharged after biodiesel manufacturing process. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n. 3, p. 260-5, 2005.

JARDIM, A. S. **Otimização de um mancal magnético passivo**. 78f. 2019. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2019.

JEON, Y. L.; SHIN, H-S.; ROGERS, P. L. Xylitol production from a mutant strain of *Candida tropicalis*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 106-113, 2011.

KATSUYAMA, M.; ICHIKAWA, H.; OGAWA, S.; IKEZAWA, Z. A novel method to control the balance of skin microflora. Part. 1. Attack on biofilm of *Staphylococcus aureus* without antibiotics. **J DermatolSci**, v. 38, n. 3, p. 197-205, 2005.

KÖNIG, K.G. Diet and oral health. **Int. Dent. J.**, v.50, p.162-174, 2000.

KOUTINAS, M. et al. Bioprocess Systems Engineering Transferring Traditional Process Engineering Principles to Industrial Biotechnology. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v.3, p1-9, 2012.

KUMAR, V.; SANDHU, P.P.; AHLUWALIA, V.; MISHRA, B.B.; YADAV, S. K.; Improved upstream processing for detoxification and recovery of xylitol produced from corncob. **Bioresour Technol**, v.291, p.121931, novembro, 2019.

LAGES, F.; SILVA-GRAÇA, M.; LUCAS, C. Active glycerol uptake is a mechanism underlying halotolerance in yeasts: a study of 42 species. **Microbiology**, v. 145, p. 2577- 2585, 1999.

LAGES, F; LUCAS, C. Contribution to the physiological characterization of glycerol active uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochemistry and Biophysics Acta**, v. 1322, p. 8-18, 1997.

LI, M. et al. Xylitol production by *Candida tropicalis* from corn cob hemicellulose hydrolysate in a two-stage fed-batch fermentation process. **J Chem Technol Biotechnol**, v. 87, n. 3, p. 387-392, 2012.

LIANG, H. et al. Statistical optimization of xylitol production from corncob hemicellulose hydrolysate by *Candida tropicalis* HDY-02. **N Biotechnol**. v. 28, n.6, p. 673-678, 2011.

LIMA, L. H. A. **Estudo Moleculares dos genes XYL1 e XYL2 de Candida tropicalis visando a produção de xilitol**. 12006. 62p. Tese (Doutorado). Universidade de Brasília. Brasília. DF. 2006.

LIMA, L. H. A. **Estudo Moleculares dos genes XYL1 e XYL2 de Candida tropicalis visando a produção de xilitol**. 162p. 2006. Tese (Doutorado) – Universidade de Brasília. Brasília. DF, 2006.

LIMA, L. H. A; BERLINCK, C. N. **Ciência Hoje**. Vol. 33 nº 195. p. 66-69. Julho de 2003.

MAEDA, N.; OGAWA, H. **Skin care preparation for ameriorating chapped skin**. JP2002121108. Depositante: Shiseido co ltd. (Japan). Deposito: 13 out 2000. Concessão 23 abr. 2002.

MÄKINEN, K.K. The rocky road of xylitol to its clynical application. **Journal Of Dental Resource**, v. 79, p.1352-1355, 2000.

MARDAWATI, E.; ANDOYO, R.; SYUKRA, K.A.; KRESNOWATI, M.T.A.P.; BINDAR, Y. Production of xylitol from corn cob hydrolysate through acid and enzymatic hydrolysis by yeast. **IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science**, v. 141, 2018.

MARSHALL, R. T.; GOFF, D. Formulating and Manufacturing Ice Cream and Other Frozen Desserts. **Food Technology**, v. 57, n. 5, p. 32-44, 2003.

MATA-ALVAREZ, J.; MICHEL, D. A. Mathematical Modeling in Biotechnology In: **Biotechnology – Vol. 2**, Encyclopedia of Life Support Systems, p.1-8, 2009.

MATOS, G.S. **Adaptação e reciclagem de células de *Candida guilliermondii* em hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar: efeito sobre as enzimas xilose redutase e xilitol desidrogenase**. 2004. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, 2004.

MATTILA, P. T.; SVANBERG, M. J.; MÄKINEN, K. K.; KNUUTTILA, M. L. E. Dietary xylitol, sorbitol and D-mannitol but not erythrytol retard bone resorption in rats. **J. Nutr.**, v. 126, p. 1865-1870, 1996.

MESQUITA, B. M. **Modelagem matemática e avaliação de estratégias operacionais para produção de lipase por *Yarrowia lipolytica***. 102 f. 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

MICHEL, A. C. S. **Produção biotecnológica de xilitol e etanol a partir de hidrolisado de casca de soja**. 74p. 2007. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2007.

MIURA, M.; WATANABE, I. Microbial conversion of bamboo hemicellulose hydrolysate to xylitol, p. 515-522, 2013.

MOAT, A. G.; FOSTER, J. W.; SPECTOR, M. P. Central pathways of carbohydrate metabolismo. In: **Microbial Physiology**, Moat AG, Foster JW and Spector MP (eds), New York: Wiley-Liss, p.363, 2002.

MODESTO, L. F. A. **Estudo da bioprodução de xilitol e do crescimento celular empregando leveduras da espécie *Candida guilliermondii***. 2015. 109f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

- MUSSATO, S. I. Application of xylitol in food formulations and benefits for health. In: SILVA, S. S.; CHANDEL, A. K. (Eds) **D-xylitol: fermentative production, application and commercialization**. Heidelberg: Springer, p. 309-323, 2012.
- MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. vol. 38, n. 4, out./dez., 2002.
- MUSSATO, S. I.; SILVA, C. J. S. M. ROBERTO, I. C. Fermentation performance of *Candida guilliermondii* for xylitol production on single and mixed substrate media. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 72, p. 681–686, 2006.
- NEVOIGT, E.; STAHL, U. Osmoregulation and glycerol metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 21, p. 231-241, 1997.
- NIELSEN, J.; VILLADSEN, J.; LIDÉN, G. **Bioreaction Engineering Principles**. 2nd ed. New York: Springer Verlag, 2003.
- NIKOLAEV, D.I. et al. New ion-exchange resins in xylitol production. **Gidroliz Lesokhim**. Prom-St., v. 2, p.16-18, 1983.
- NOCEDAL, J.; WRIGHT, S.J. **Numerical Optimization**. New York: Springer-Verlag, 1999.
- PAHLMAN, I. L. et al. Cytosolic redox metabolism in aerobic chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast**, v. 18, n. 7, p. 611-20, 2001b.
- PAREDA, M. D. C. V et al. **Xylitol esters and ethers applied as alternative emulsifiers, solvents, co-emulsifiers and preservatives systems for pharmaceutical and cosmetic products**. US 2011/0251415 A1. Depositante: Chemyunion química Ltda (Brazil). Depósito 13 out. 2011. Concessão: 06 maio 2014.
- PIAZZI, A. C. P. **Construção de modelos matemáticos para processos fermentativos – avaliação de efeitos das condições de cultivo**. 143 f. 2019. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2019.
- PANAGIOTOU, G. et al. Fermentation performance and intracellular mixture. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v.36, p.100-106, 2005.
- POCCIA, M. E.; BECCARIA, A. J.; DONDO, R. G. modeling the microbial growth of two *Escherichia coli* strains in a multi-substrate environment. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 2, p.347-354.
- PAPPU, J. S. M.; GUMMADI, S. N. Modeling and simulation of xylitol production in bioreactor by *Debaryomyces nepalensis* NCYC 3413 using unstructured and artificial neural network models. **Bioresource Technology**, v. 220, p. 490–499, 2016.
- PRABHU, A.A et al. Biovalorisation of crude glycerol and xylose into xylitol by oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. **Microb Cell Fact**, v. 19, n.121, junho, 2020.

RASTOGI, G et al. Presence of glucose, xylose, and glycerol fermenting bacteria in the deep biosphere of the former Homestake goldmine, South Dakota. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 1-8, 2013.

RILEY, M.; LOCKE, A.B.; SKYE, E.P. Health maintenance in schoolaged children: Part II. Counseling recommendations. **American family physician**, v.83, n.6, p.689-694, 2011.

ROSA, S.M.A., FELIPE, M.G.A., SILVA, S.S. AND VITOLLO, M. Xylose reductase production by *Candida guilliermondii*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 70-72, p. 127-135, 1998.

SAITOH, S. HASUHUMA, T. TANAKA, T. KONDO, A. Co-fermentation of cellobiose and xylose using beta-glucosidase displaying diploid industrial yeast strain OC-2. **Bioenergy and Biofuels**. v. 57, n. 5, 2010.

SANTOS, J.C. **Processo fermentativo de obtenção de xilitol a partir de hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar em reator de leito fluidizado: avaliação das condições operacionais**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial. Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, 2005.

SANTOS, L. O. **Estudo da produção de glutatona a partir de *Saccharomyces cerevisiae* e avaliação da aplicação de campos magnéticos durante as fermentações**. 2008. 168 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade de Campinas, SP, 2008.

SANTOS, R. S de. **Acoplamento das reações de fischer-tropsch em reator multifuncional**. 2016. 97 f. Dissertação (mestrado) - Centro Universitário da FEI, São Bernardo do Campo, SP, 2016.

SARROUH, B.F.; SILVA, S.S. Evaluation of the performance of a three-phase fluidized bed reactor with immobilized yeast cells for the biotechnological production of xylitol. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v. 6, p. 1-15, 2008.

SCHMIDELL, W; LIMA, U. A de.; BORZANI, A.; AQUARONDE, E. Modelagem matemática e simulação de processos fermentativos. **In: Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. Volume 2. Editora Edgard Blüncher, p.123-178, 2001.

SIDERIUS, M. et al. The control of intracellular glycerol in *Saccharomyces* temperature. **Molecular Microbiology**, v. 36, n. 6, p. 1381-1390, 2000.

SILVA, C. J. S. M.; MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Study of xylitol production by *Candida guilliermondii* on a bench bioreactor. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 115-119, 2006.

SILVA, A. B.; OLIVEIRA, D. S. **Investigação de leveduras de ocorrência ambiental com o potencial metabólico de consumo do glicerol bruto derivado**

da produção de biodiesel e caracterização dos produtos gerados. Dissertação e Tese (Biologia celular e Molecular). Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica. Rio Grande do Sul, 2013.

SILVA, D. D. V. da. et al. **Influência da relação glicose/xilose na formação dos subprodutos glicerol e etanol durante a obtenção biotecnológica de xilitol a partir de hidrolisado de bagaço de cana.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM RESÍDUOS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, costão do santinho. Florianópolis, SC, NISAM – USP, 2004. Disponível em: <<https://www.ipen.br/biblioteca/cd/ict/2004/ARQUIVOS%20PDF/01/01-019.pdf>> Acesso em: 03 maio de 2021.

SILVA, G. P.; MACK, M.; CONTIERO, J. Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 30-39, 2009.

SILVEIRA, C. L.; MAZUTTI, M. A.; SALAU, N. P. G. Indentifybilty measures to select the parameters to be estimated in a solid-state fermentation distributed model. **Biotechnology Progress**, v. 32, p. 905-917, 2016.

SOUZA, R. M de. **Produção de xilitol por linhagens de leveduras do gênero *Cyberlindnera*.** 68f. 2019. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, 2019.

SOUZA, J. D. A. **Avaliação do hidrolisado hemicelulósico da casca de jabuticaba para a obtenção de xilitol por *Candida guilliermondii*.** 47f. 2013. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis. MG. 2013;

SU, B. et al. Efficient production of xylitol from hemicellulosic hydrolysate using engineered *Escherichia coli*. **Metab Eng**, v. 31, p. 112-122, 2015.

SU, B. et al. Metabolic engineering strategies for improving xylitol production from hemicellulosic sugars. **Biotechnology letters**, v. 35, n. 11, p. 1781-1789, 2013.

TADA, K. et al. Microbial xylitol production from corn cobs using *Candida magnolia*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 98, p. 228-230, 2004.

TANI, Y.; YAMADA, J. C. Glycerol metabolismo in methylotrophic yeasts. **Agriculture and Biological Chemistry**, v. 51, n. 7, p. 1927-1933, 1987.

TAMBURINIA, E.; BIANCHINIB, E.; BRUNIA, A.; FORLANIC, G. Cosubstrate effect on xylose reductase and xylitol dehydrogenase activity levels, and its consequence on xylitol production by *Candida tropicalis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.46, n.5, p.352-359, 2010.

TOCHAMPA, W. et al. A model of xylitol production by the yeast *Candida mogii*, **Bioprocess Biosyst. Eng**, v. 28, p. 175–183, 2005.

TORRES, N. V.; SANTOS, G. The (mathematical) modeling Process in Biociences. **Frontiers in Genetics**, v. 6, p.1-9, 2015.

VENKATESWAR R. L. et al. Bioconversion of lignocellulosic biomass to xylitol: An overview. **Bioresour Technol.** v. 213, p. 299-310, 2015.

VOEGELE, R. T.; SWEET, G. D.; BOSS, W. Glycerol kinase of *Escheriquia coli* is activated by interation with the glycerol facilitador. **Jornal of Bacteriology**, v. 175, p. 1087-1094, 1993.

WALTHER, T. HENSIRISAK, P., AGBLEVOR, F. A. The influence of aeration and hemicellulosic sugars on xylitol production by *Candida tropicalis*. **Bioresource Technology**, v. 76, p. 213-220, 2001.

WANG, Z. X. et al. Glycerol production by microbial fermentation: A review. **Biotechnology Advances**, v. 19, p. 201-223, 2001.

WINKELHAUSEN, E.; KUZMANOVA, S. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 86, n. 1, p. 1-14, 1998.

YABLOCHKOVA, E. N. et al. The activity of key enzymes in xilose assimilating yeasts at different rates of oxygen transfer to the fermentation medium. **Microbiology**, Moscow, v. 73, n.2, p. 129-133, 2004.

ZACHAROF, M.P.; LOVITT, R. W. Modelling and simulation of cell grow dynamics, substrate consumption and lactic acid production. **Biotechnol Bioproc**, v. 18, p. 52-64, 2013.

ZHANG J. et al. Xylitol production from d-xylose and horticultural waste hemicellulosic hydrolysate by a new isolate of *Candida athensis* SB18. **Bioresour Technol**, v. 105, p.134-141, 2012.