

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

CLAUDIA TAKAKO SHIBAHARA ASANO

Importância do uso de xilitol para as indústrias
alimentícias e farmacêuticas

Lorena

2014

CLAUDIA TAKAKO SHIBAHARA ASANO

Importância do uso de xilitol para as indústrias alimentícias e farmacêuticas

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Escola de Engenharia de Lorena - Universidade
de São Paulo como requisito parcial para
conclusão da Graduação do curso de Engenharia
Bioquímica.

Orientadora: Profa. Dr^a Rita de Cássia Lacerda
Brambilla Rodrigues.

Lorena

2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO
Serviço de Biblioteca
Escola de Engenharia de Lorena

Asano, Claudia Takako Shibahara

Importância do uso de xilitol para as indústrias alimentícias e farmacêuticas /
Claudia Takako Shibahara Asano. - Lorena, 2014.
57 f.

Monografia apresentada como requisito parcial para a conclusão do Curso de
Graduação de Engenharia Bioquímica - Escola de Engenharia de Lorena da
Universidade de São Paulo.

Orientadora: Rita de Cássia Lacerda Brambilla Rodrigues.

1. Xilitol. 2. Biotecnologia. 3. Fermentação. 4. Indústria de alimentos.
I.Rodrigues, Rita de Cássia Lacerda Brambilla, Orient.

Dedicatória

**Aos meus pais, Soichi e Mary e
irmãs Fabiana, Clara e Emília.**

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmãs, por tudo que me fizeram durante toda minha vida.

À Prof^a. Dr^a Rita, que se dispôs a me orientar durante o desenvolvimento do trabalho, estando sempre presente e me auxiliando para a conclusão satisfatória do trabalho. Muito obrigada pela confiança e disposição dedicadas a mim!

Aos meus queridos amigos, minha segunda família.

RESUMO

ASANO, C. T. S. **Importância do uso de xilitol para as indústrias alimentícias e farmacêuticas**. 2014. 57 f. Trabalho de conclusão de curso – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

O xilitol, um açúcar-álcool, apresenta propriedades adoçantes e cariostáticas sendo categorizado como um ingrediente não-tóxico, classificado também como Generally Regarded as Safe (GRAS) pela Food and Drug Administration (FDA), possui aplicabilidade no setor alimentício, farmacêutico e odontológico com uso intensificado como aditivo alimentar ou como ingrediente em produtos de higiene oral, goma de mascar, doces e alimentos dietéticos. Além disso, existe um interesse crescente na utilização do xilitol nas áreas clínicas e cosmética, devido a sua contribuição para a melhora de eventuais enfermidades, devido à sua característica em inibir o crescimento de algumas bactérias. Desta forma, pode também ser utilizado para prevenir ou tratar doenças, como diabetes, obesidades, deficiência da enzima 6 glicose-P desidrogenase, otites, osteoporose e fibrose cística. É produzido atualmente por hidrogenação química da xilose presente em hidrolisados hemicelulósicos utilizando Ni/Al₂O₃ como catalisador. O processo biotecnológico para a produção de xilitol utilizando leveduras fermentadoras de xilose, que reduzem a xilose em xilitol através da enzima xilose redutase dependente de NAD(P)H, tem várias vantagens tais como uma conversão seletiva de xilose em xilitol com elevado rendimento. Várias leveduras que utilizam xilose como fonte de carbono são conhecidas como produtoras de xilitol. Dependendo da especificidade do cofator da primeira enzima do metabolismo de xilose, a xilose redutase (EC 1.1.1.21), leveduras como *Candida guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii* e *Candida parapsilosis*, são consideradas boas produtoras de xilitol. A razão para o acúmulo de xilitol tem sido apresentada como resultado do mecanismo regulatório baseado no balanço redox (NADH/NAD⁺), uma vez que maior disponibilidade de O₂ ativaria o ciclo dos ácidos tricarbóxicos e a regeneração do NAD⁺. A conversão de xilose a xilitol pode ser a partir de diferentes matérias-primas, como hidrolisados de diversos materiais lignocelulósicos e pode ser afetada por vários fatores (pH, disponibilidade de oxigênio, nutrientes, concentração inicial de células etc.). Este trabalho visa contribuir para a elucidação da aplicabilidade do xilitol pelas indústrias, bem como para o processo de produção de xilitol pela via biotecnológica.

Palavras-chave: Xilitol, biotecnologia, fermentação, indústria de alimentos.

ABSTRACT

ASANO, C. T. S. **The importance of xylitol usage on both food and pharmaceutical industry.** 2014. 57 f. Capstone Project in Biochemical Engineering – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

Xylitol, a sugar-alcohol, shows sweetener and cariostatic properties being categorized as a non-toxic additive ingredient, also classified as *Generally Regarded as Safe* (GRAS) by *Food and Drug Administration* (FDA). Food, pharmaceutical and dental industries widely use xylitol as food additive or as ingredient in oral care products, chewing gum, candies and dietetic foods. Further, there are relevant interests for clinical and cosmetic areas, because it assists to the treatment of some illnesses, inhibiting the bacterial growth of some species. Therefore, xylitol can be used to treat diseases, like diabetes, obesities, glucose 6-P dehydrogenase enzyme deficiency, ear infections, osteoporosis and cystic fibrosis. Nowadays, the industrial production is carried out by the chemical hydrogenation of xylose provenient from hydrolyzed hemicellulosic raw-materials, in the presence of Ni/Al₂O₃ as catalyst. Biotechnological processes are an alternative for xylitol's production, making use of xylose fermenting-yeast. Those microorganisms reduce xylose to xylitol with xylose reductase (NAD(P)H dependent) and show many advantages including high-selective bioconversion with a high yield. Many yeast capable of using xylose as carbon source are known as xylitol producers. Some yeasts can be satisfactorily applied to produce xylitol, depending on the specificity of the first enzyme's cofactor of xylose metabolism, xylose reductase (EC 1.1.1.21), for example: *Candida guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii* and *Candida parapsilosis*. Their redox balance (NAD/NAD⁺) leads to the xylitol's accumulation as a result from the regulatory mechanism, since higher oxygen availability activates the tricarboxylic acids' cycle and the NAD⁺ regeneration. The conversion of xylose to xylitol can be obtained from different raw-materials, like hydrolysates from lignocellulosic materials, and is affected by several factors, including pH, oxygen availability, nutrients and initial cells concentration. This paper aims to elucidate the xylitol's applicability fields and explore the biotechnological synthesis' pathway.

Keywords: Xylitol, biotechnology, fermentation, food industry.

LISTA DE TABELA

Tabela 1- Características e propriedades físico-químicas do xilitol.	15
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula estrutural do xilitol.	15
Figura 2 – Processo de remineralização dos dentes devido o consumo de xilitol.	20
Figura 3 – Aumento do volume dos ossos em ratos alimentos em uma dieta suplementada com 5% (B), 10% (C) e 20% (D) de xilitol, em comparação ao controle (A), cuja a dieta não continha xilitol.	24
Figura 4 – Tecnologias disponíveis para a produção de xilitol.	28
Figura 5 - Produção de xilose e xilitol	31
Figura 6 - Conversão microbiológica de xilose a xilitol em leveduras	33
Figura 7 - Metabolismo de xilose e glicose em leveduras fermentadoras de xilose	34
Figura 8 – Principais inibidores (em negrito) formados durante a hidrólise.	40

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	12
1. INTRODUÇÃO	12
CAPÍTULO II	14
2. OBJETIVOS	14
CAPÍTULO III	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1. Xilitol: Características e Propriedades	15
3.2. Aplicabilidade do Xilitol pelas Indústrias Alimentícias e Farmacêuticas	16
3.2.1. Importância do Xilitol na Saúde Humana	19
3.2.1.1. Saúde Bucal	19
3.2.1.2. Otite Média Aguda	21
3.2.1.3. Dermatite Atópica	22
3.2.1.4. Osteoporose.....	23
3.2.1.5. Infecções Respiratórias.....	24
3.2.1.6. Traumatologia	25
3.2.1.7. Ginecologia	25
3.2.1.8. Oftalmologia	26
3.3. Produção de Xilitol.....	27
3.3.1. Processo Químico.....	29
3.3.2. Processo Microbiológico	32
3.3.3. Fatores que Influenciam a Produção de Xilitol pela via Biotecnológica	35
3.3.3.1. Concentração inicial de substrato: xilose e glicose	35
3.3.3.2. Fonte de nitrogênio.....	37
3.3.3.3. Concentração celular inicial.....	37
3.3.3.4. pH	38
3.3.3.5. Temperatura	38
3.3.3.6. Concentração de Oxigênio Dissolvido	39
3.3.3.7. Inibidores no meio de fermentação: hidrolisados hemicelulósicos.....	40
3.4. Vantagens da via Biotecnológica de Produção de Xilitol	41
CAPÍTULO IV	43
4. METODOLOGIA	43
CAPÍTULO V	44

5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O nome xilitol relaciona-se a xilose, o açúcar da madeira, a partir do qual o xilitol foi descoberto em meados dos anos 1890 pelos químicos Fischer e Bertrand, na forma de xarope, a partir da reação de xilose existente em cavacos de madeira com amalgama sódica (SILVA, 2011). O xilitol é um poliól com importância nas áreas alimentícias, odontológica, farmacêutica e médica, podendo ser potencialmente aplicado em outros segmentos industriais. Dentre suas características, podemos destacar seu poder adoçante equivalente ao da sacarose, sua ação anticariogênica, podendo ser consumido por diabéticos (YLIKAHRI, 1979), por pessoas obesas e portadoras de deficiência de glicose-6p-desidrogenase (WANG; VAN EYS, 1981).

Candido e Campos¹ (1996 apud Maia et. al., 2008, p. 147) afirmam que como o xilitol é um poliól (ou açúcar álcool), ele se diferencia de outros sacarídeos por ter sofrido uma redução do grupo carbonílico (cetona ou aldeído) de açúcar a álcool. Essas conversões conferem ao poliól propriedades importantes e particularmente interessantes para a aplicação em indústrias de alimentos, como por exemplo: não sofrer reação de Maillard; possuir maior estabilidade química; maior resistência à cristalização; maior afinidade por água e menor susceptibilidade à fermentação.

Atualmente, o xilitol é produzido por hidrogenação química da xilose presente em hidrolisados hemicelulósicos utilizando Ni/Al₂O₃ como catalisador. O processo biotecnológico para a produção de xilitol utilizando leveduras fermentadoras de xilose, que reduzem a xilose em xilitol através da enzima xilose redutase dependente de NAD(P)H, tem várias vantagens tais como uma conversão seletiva de xilose em xilitol com elevado rendimento. Várias leveduras que utilizam xilose como fonte de carbono são conhecidas como produtoras de xilitol. Dependendo da especificidade do cofator da primeira enzima do metabolismo de xilose, a xilose redutase (EC 1.1.1.21), leveduras como *Candida guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii* e *Candida parapsilosis*, são consideradas boas produtoras de xilitol. A razão para o acúmulo de xilitol tem sido apresentada como

¹ CANDIDO, L. M.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais: dietéticos**. Livraria Varela, São Paulo, 1996.

resultado do mecanismo regulatório baseado no balanço redox (NADH/NAD⁺), uma vez que maior disponibilidade de O₂ ativaria o ciclo dos ácidos tricarboxílicos e a regeneração do NAD⁺. Apesar das importantes características do xilitol, seu uso em escala comercial ainda tem sido limitado devido a seu custo relativamente alto. Entretanto, sua produção por via microbiológica tem recebido muita atenção como uma alternativa ao processo convencional por não requerer uma solução inicial de xilose pura. Este trabalho pretende contribuir para a elucidação da aplicabilidade do xilitol pelas indústrias, bem como para o processo de produção de xilitol descrevendo a aplicabilidade do xilitol em diversos segmentos das indústrias alimentícias e farmacêuticas.

CAPÍTULO II

2. OBJETIVOS

Geral: Contribuir para a elucidação da aplicabilidade do xilitol pelas indústrias, bem como para o processo de produção de xilitol.

Específicos:

- Descrever a aplicabilidade do xilitol enfatizando suas vantagens e desvantagens em diversos segmentos das indústrias alimentícias e farmacêuticas.
- Descrever os processos de obtenção de xilitol por via química e por via biotecnológica.

CAPÍTULO III

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Xilitol: Características e Propriedades

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 foi aprovado como produto dietético pela Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Medicamentos do Ministério da Saúde (DIMED), conforme processo nº 4624/79, comunicado nº 730/80, de 07 de julho de 1980 (AGUIAR et. al., 1999).

O xilitol é um álcool pentahidroxilado, com fórmula estrutural apresentado na Figura 1 (MÄKINEM, 2000). O número ímpar de carbono torna essa estrutura mais difícil de ser atacada por micro-organismos que querem extrair energia (MUSSATO, 2012). A Tabela 1 mostra as características e propriedades físico-químicas do xilitol.

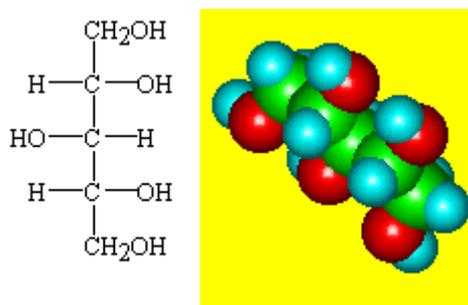


Figura 1– Fórmula estrutural do xilitol.

Tabela 1- Características e propriedades físico-químicas do xilitol.

Propriedades	Características/Valores
Fórmula empírica	C ₅ H ₁₂ 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 (em H₂O a 20°C)	64,2g/100g solução
Viscosidade (a 20°C)	1,23 cP (solução 10%) 20,63 cP (solução 60%)
Higroscopicidade (em alta umidade)	Maior que sacarose e menor que sorbitol
Poder adoçante	Similar à sacarose, maior que sorbitol ou manitol
Valor calórico	2,4 kcal/g
Estabilidade	Estável a 120°C (não carameliza)

Fonte: Adaptado de MUSSATO, 2012.

As propriedades físico-químicas (Tabela 1) e fisiológicas importantes do xilitol, o promovem como insumo de grande importância na indústria alimentícia, odontológica e farmacêutica (BAR, 1986). Seu uso foi aprovado em diversos países e seu emprego apresenta-se em ordem crescente em produtos na indústria alimentícia, farmacêutica, e de cosméticos, com maior uso nas indústrias alimentícias, seguida da indústria farmacêutica e cosmética (DA SILVA, et. al., 1993/1994).

3.2. Aplicabilidade do Xilitol pelas Indústrias Alimentícias e Farmacêuticas

O xilitol é um poliol ou açúcar álcool como o sorbitol, maltitol, manitol, eritritol, lactol e isomalte (TALJA et al., 2001). Da produção mundial de polióis, 42% é utilizado em processamentos de alimentos, 22% em preparação de cosméticos e produtos de higiene, 21% como intermediário na produção de químicos e 15% em aplicações farmacêuticas² (BUSINESS COMMUNICATIONS Co. INC., 2002 apud Rodrigues, 2005). A maioria dos polióis apresenta características químicas e físicas similares aos açúcares, com a vantagem de serem reduzidos em calorias e serem não cariogênicos. Estas características abrem uma ampla faixa de aplicações em alimentos e produtos farmacêuticos³ (TALJA et. al., 2001 apud Rodrigues, 2005).

De uma maneira geral os benefícios do uso do xilitol são citados na literatura por Manz; Vanninen; Voirol (1973); Bar (1986); Hämäläinen; Makinem (1989) dentre outros

²BUSINESS COMMUNICATIONS COMPANY INC. - The global market for polyols. Disponível em: http://www.the-infoshop.com/study/bc8013_polyols.html. Acesso em: 15/10/2002.

³TALJA, R. A., ROOS, Y. H. Phase and state transition effects on dielectric, mechanical, and thermal properties of polyols. *Thermochimica Acta*, v.380, n.2, 14, p.109-121, Dezembro 2001.

como: apresenta gosto bom não deixando sensação desagradável após seu uso; ajuda a reduzir o desenvolvimento de cáries dentárias; reduz a formação de placa dentária; pode ser utilizado como um açúcar alternativo para pessoas que necessitam de uma dieta especial, como diabéticos, pessoas obesas, deficientes da enzima glicose 6-fosfato desidrogenase dentre outras.

A importância econômica e social do xilitol deve-se principalmente a seu potencial como substituto de açúcares convencionais e a seu elevado poder adoçante (EMODI, 1978; HYVONEM et. al., 1982), comparável ao da sacarose e superior ao do sorbitol e manitol (BAR, 1986).

Na indústria alimentícia, como adoçante, em substituição a sacarose, a incorporação de xilitol é permitida por ser uma substância atóxica e reconhecida como aditivo pela GRAS (*Generally Regarded as Safe*) pela FDA (*Food and Drug Administration*), sendo seu uso seguro para humanos (CORTEZ, 2005). A incorporação de xilitol em alimentos é permitida por ser uma substância atóxica, e, portanto reconhecido como um aditivo “*Generally Regarded as Safe*” pela *Food and Drug Administration*. De acordo com a Codex Alimentarius, o xilitol é um adoçante permitido na utilização em dietas para diabéticos (MANZ et al., 1973). É classificado pela *Food and Drug Administration* como um edulcorante nutritivo ou calórico, denominação dada a todo edulcorante que possua mais de 2% do valor calórico da sacarose, por unidade equivalente de poder adoçante. Seu valor calórico é de 2,4kcal/g e seu poder adoçante é equivalente ao da sacarose (MARSHALL; GOFF, 2003).

O xilitol é potencialmente aplicado no processamento de alguns alimentos como: balas, gomas de mascar, sorvetes, confeitos, chocolate, pastilhas, bebidas etc. Com ênfase maior, o xilitol é principalmente utilizado na produção de gomas de mascar, com um consumo anual de 35.000 toneladas⁴ (BUSINESS COMMUNICATIONS Co. INC. 2002 apud Rodrigues, 2005). Devido à ausência do grupo aldeído ou cetona na molécula, o xilitol é incapaz de realizar reações do tipo Maillard, propriedade esta que é desejável em diversos alimentos que são processados a altas temperaturas (MANZ; VANNINEN; VOIROL, 1973).

⁴BUSINESS COMMUNICATIONS COMPANY INC. - The global market for polyols. Disponível em: http://www.the-infoshop.com/study/bc8013_polyols.html. Acesso em: 15/10/2002.

Seu consumo, dentro das quantidades recomendadas, não causa efeitos colaterais, porém, quando ingeridos em quantidades elevadas, pode causar diarreia osmótica⁵ (TAPIAINEN et. al., 2004 apud Pereira et. al., 2009).

Além de suas aplicações alimentares, deve-se destacar o uso clínico do xilitol. Além de seu uso na área odontológica em formulações de cremes dentais e soluções para lavagem bucal devido ao seu poder anticariogênico, o xilitol tem uso em tratamento de pessoas com distúrbios no metabolismo de glicídios (diabetes) até em tratamentos de doenças como otites (UHARI; KONTIOKARI; NIEMELA, 1998; UHARI; TAPIAINEN; KONTIOKARI. 2000), osteoporose (MATILLA; SVANBERG; KNUUTILA, 1998) e dermatites (FERREIRA, 2007).

Na área cosmética, o xilitol está sendo utilizado 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* (SHISEIDO CO. LTD, 2002; KATSUYAMA, 2005). Estes autores observaram que além da inibição, os hidratantes contendo xilitol aumentaram significativamente a hidratação da pele das pessoas tratadas com o hidratante por certo período de tempo, particularmente para peles sensíveis (SHISEIDO CO. LTD, 2002).

Cosméticos, perfumes e produtos de higiene, assim como os medicamentos, devem suportar os processos de manufatura, armazenamento, manuseio pelo consumidor e manter a integridade da saúde do usuário. A contaminação durante a manufatura do produto pode ser controlada, porém, o manuseio e o uso incorreto pelo consumidor podem promover um crescimento microbiano.

A contaminação microbiana apresenta um risco potencial para a qualidade do produto e pode causar a separação de fases, mudança de coloração, produção de gases, além de afetar negativamente a saúde do consumidor (CHEMYUNION QUÍMICA LTDA., 2011). Para evitar estes problemas, agentes preservantes são adicionados à formulação do produto. O agente preservante deve ser uma molécula bioativa eficaz na destruição ou inibição dos micro-organismos indesejados que estão em crescimento. 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

⁵Tapianen, T. et al. **Ultrastructure of *Streptococcus pneumonia* after exposure to xylitol.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2004.

de pH e não causar efeitos tóxicos, irritativos e/ou hipersensíveis. A exposição a esse agente pode se dar de várias formas, seja por ingestão, inalação ou por penetração na pele, porém, como é uma molécula bioativa, o simples contato com a pele já pode causar algum tipo de irritação ou sensibilidade. Estima-se que aproximadamente 12% da população apresentam efeitos colaterais quando utilizam cosméticos, sendo em sua maioria, reações alérgicas causadas por fragrâncias, seguidas de agentes preservantes (CHEMYUNION QUÍMICA LTDA., 2011). Nestes casos, o xilitol aparece como uma alternativa, pois além de inibir o crescimento de alguns micro-organismos, apresenta também menor índice de alergia. Estudos mostram que o xilitol em concentração 5% inibe o crescimento de *Streptococcus pneumoniae* e reduz os níveis de adesão de *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* nas células epiteliais da nasofaringe. O xilitol também é estudado por inibir o crescimento de *S. mutans* (principal agente causador de cáries dentárias) (SHISEIDO CO LTD., 2002).

O xilitol apresenta atividade igual ou superior quando comparados com algumas moléculas de agentes antimicrobianos tradicionalmente usados na indústria, deixando evidente que a molécula de xilitol pode ser utilizada em um sistema de preservantes (CHEMYUNION QUÍMICA LTDA., 2011).

3.2.1. Importância do Xilitol na Saúde Humana

Decorrente do aumento no número de pessoas apresentando algum tipo de desordem no metabolismo e com necessidade de redução no consumo destes açúcares, muitos esforços estão sendo direcionados para a substituição destes açúcares na dieta humana por alternativo que seja nutritivo e benéfico à saúde, além de apresentar outras vantagens que vão desde a tolerância por diabéticos e ser amplamente aplicado em atividades clínicas. (MUSSATO, 2012).

3.2.1.1. Saúde Bucal

Em geral a saúde humana se relaciona com sua saúde bucal que deve ser mantida principalmente pela boa higiene, pela redução na ingestão de açúcares ou pela ingestão de produtos que não causam cáries (MUSSATO; ROBERTO, 2002).

A cárie é resultado de um processo infeccioso causado por bactérias que estão presentes na placa dentária, as bactérias do gênero *Streptococcus* são altamente cariogênicas, uma vez que em pHs baixos, elas produzem muito ácido lático e sintetizam polissacarídeos extracelulares que se favorecem a aderência das bactérias na placa dentária (KALNDELMAN, 1997). O ácido lático é o responsável pela diminuição do valor de pH e consequente degradação do esmalte dentário, ocasionando um processo conhecido como desmineralização, que é a perda íons fosfato e cálcio. (BRASIL MEDICINA, 2001)

O fator anticariogênico é a propriedade mais importante do xilitol e é determinada principalmente pela sua não-fermentatibilidade pelas bactérias do gênero *Streptococcus*, dificultando a sua proliferação (KÖING, 2000; GALES; NGUYEN, 2000). O xilitol tem a capacidade de estimular a salivação, devido ao seu sabor agradável, com isso, o pH da região bucal se equilibra e a presença de alguns minerais é aumentada, favorecendo a remineralização da região bucal (Figura 2) (FERREIRA, 2007). Com a redução de *Streptococcus*, a quantidade de polissacarídeos insolúveis diminui, enquanto que os polissacarídeos solúveis têm sua quantidade aumentada e assim, consequentemente a limpeza bucal se torna mais fácil pela escovação convencional (KÖNIG, 2000).



Figura 2 – Processo de remineralização dos dentes devido o consumo de xilitol.

Vários estudos relacionam o consumo do xilitol com a ocorrência de cáries. Gales e Nguyen (2000) avaliaram o efeito das gomas de mascar contendo xilitol e sorbitol em

pacientes pertencentes a um grupo de alto risco de desenvolvimento de cáries que consumiram de 3 a 5 gomas por dia, durante 40 meses. De acordo com esses autores, os resultados mostraram que as gomas de mascar que continham xilitol foram capazes de reduzir em até 63% o índice de cáries desses pacientes, enquanto aquelas que tinham sorbitol reduziram as cáries em 30%.

Mäkinen et. al. (2001) observaram o consumo diário de 5,2 g de estimuladores de saliva, contendo xilitol ou eritritol sobre o controle da placa dentária e de *Streptococcus mutans* e constataram que, nos consumidores de xilitol, o peso da placa total, coletada durante um período de 3 minutos em toda a superfície do dente e a quantidade de *Streptococcus mutans* presente na placa e na saliva sofreram uma redução significativa, ao passo que nos consumidores de eritritol não foi observada nenhum efeito (MÄKINEN et. al., 2001).

Em suma, o xilitol apresenta as seguintes vantagens relacionadas à saúde bucal:

- reduz a incidência de cáries;
- estabiliza íons de cálcio e fosfato na saliva e conseqüentemente remineraliza os dentes;
- estabiliza as cáries já formadas;
- reduz o crescimento do *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* na saliva;
- estimula a salivagem, sem o aumento da concentração de ácidos na placa dentária;
- controle do pH da placa e capacidade tamponante da saliva, após o consumo da sacarose.

3.2.1.2. Otite Média Aguda

A otite média aguda é a segunda doença com maior índice de infecção em crianças, causada por uma bactéria da nasofaringe, que entra no ouvido médio via tubo de Eustáquio (ERRAMOUSPE; HEYNEMAN, 2000). Devido ao crescente aumento de casos de otite média e ao gasto financeiro com a doença, além das possíveis complicações e crescentes prescrições de antibióticos, com constante aumento da resistência bacteriana, buscaram-se então alternativas para o tratamento da otite média aguda (ALMEIDA, 2008).

O xilitol age prevenindo ou combatendo essa doença, pois inibe o crescimento da bactéria *Streptococcus pneumoniae*, o principal causador da sinusite e das infecções do ouvido médio (KONTIOKARI et. al., 1995), isso porque o xilitol impede a aderência da bactéria⁶ (KONTIOKARI, UHARI, KOSKELA, 1998 apud Ferreira, 2007).

A dose diária recomendada para combater e prevenir a otite média aguda não é conhecida, no entanto, vários estudos foram realizados utilizando o xilitol com o intuito de prevenir a doença. Neste sentido, Vezina e Mitchell (2007) executaram um estudo com 120 crianças, na faixa etária de 6 meses a 3 anos (idade com maior índice da doença) e observaram que o xilitol foi bem tolerado ao ser administrado em maiores doses, porém, poucas vezes ao dia (5g com aplicação de três vezes ao dia ou 7,5g com aplicação uma vez ao dia). Uma dose diária de 8,4g de xilitol ministrada na forma de duas gomas de mascar, mascada por 5 minutos cada, é efetiva no combate, reduzindo em 40% o índice dessa infecção (UHARI et. al., 1996). O xilitol também é tolerado por crianças na forma de xarope, sendo além de efetivo contra a doença, reduz a necessidade do uso de antibióticos (UHARI, 1998).

3.2.1.3. Dermatite Atópica

A dermatite atópica é uma erupção pruriginosa, que não pode ser curada, mas sim tratada. É caracterizada por um processo inflamatório o qual é comumente colonizado pela bactéria *Staphylococcus aureus*. É comum entre as crianças, e o seu principal sintoma é a coceira, de intensidade variada. A doença apresenta um curso crônico, e a intensidade e o desconforto dos sintomas ocasionam sérias implicações na vida do paciente (CHAMPION; PARISH, 1994).

A incidência da dermatite atópica vem aumentando muito nas últimas décadas, principalmente nos países industrializados, talvez devido a fatores externos, que propiciam o agravamento das lesões e, como consequências diretas, trazem dificuldades de adequação escolar, social e familiar (CHAMPION; PARISH, 1994; KIEBERT et. al., 2002). Através de estudos, viu-se que o xilitol não apresenta propriedades bacteriostáticas ou bacteriocidas *in vitro* sobre o *Staphylococcus aureus* e o provável mecanismo do xilitol contra esta bactéria esteja relacionado à propriedade de antiaderência do xilitol frente a esta bactéria.

⁶KONTIOKARI, T.; UHARI, M.; KOSKELA, M. **Antiadhesive effects of xylitol on otopathogenic bacteria.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 41, p. 563-565, 1998.

Ferreira, 2007 observou realizando testes em coelhos que o xilitol não apresenta irritabilidade para a pele, porem apresenta uma leve fototoxicidade, sendo necessário, então, o uso de protetor solar, caso o xilitol seja aplicado via dérmica (FERREIRA, 2007).

3.2.1.4. Osteoporose

A osteoporose é uma doença causada pela diminuição na deposição de cálcio nos ossos, que sofrem perda no volume e nas propriedades biomecânicas. Essa doença afeta particularmente o fêmur, que se torna mais frágil, quebrando facilmente (MATILLA et. al., 1996).

O xilitol estimula a absorção de cálcio pelo intestino, facilitando a passagem do sangue para os ossos, dessa forma, o conteúdo de cálcio nos ossos aumenta, não necessitando de uma reabsorção (MATILLA et. al., 1996). Isso ocorre, pois, durante o metabolismo do xilitol, há um aumento na razão NADH/NAD. Essa razão está fortemente ligada ao processo de calcificação, o aumento de NADH intensifica o transporte de íons Ca^{2+} através da membrana celular, ativando o processo calcificação dos ossos e de cartilagens, aumentando a síntese de colágeno (MATILLA et. al., 1996).

A Figura 3 representa um estudo feito com ratos, onde há um comparativo entre tratamentos com diferentes concentrações de xilitol, ficando evidente que, no tratamento da osteoporose, quanto maior a concentração de xilitol implementado na dieta, melhores são os resultados obtidos (MATILLA et. al., 1999).

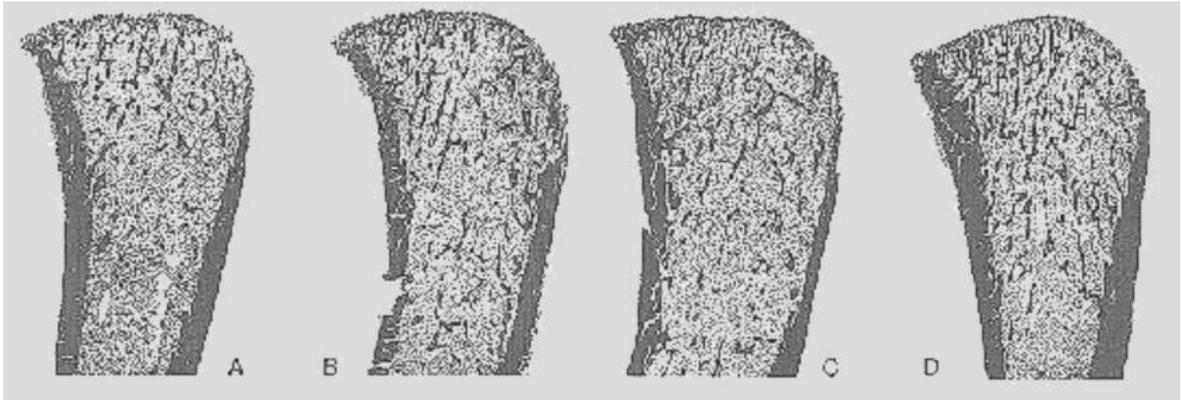


Figura 3 – Aumento do volume dos ossos em ratos alimentados em uma dieta suplementada com 5% (B), 10% (C) e 20% (D) de xilitol, em comparação ao controle (A), cuja a dieta não continha xilitol.

3.2.1.5. Infecções Respiratórias

Os pulmões são revestidos por uma camada fina de líquido, que contém substâncias antimicrobianas capazes de eliminar bactérias que são respiradas ou inaladas, prevenindo dessa forma as infecções pulmonares. O aumento na concentração de sais nesse líquido faz com que a ação antimicrobiana seja inibida, fazendo com que as bactérias se espalhem e resulte em uma infecção. A redução de sais faz com que a ação antimicrobiana aumente, prevenindo infecções. A eficiência do xilitol, segundo (ZABNER et al., 2000) é atribuída a baixa permeabilidade transepitelial do xilitol, por isso, ele não é metabolizado pela maioria das bactérias e pode diminuir a concentração de sais no líquido que reveste os pulmões (TAPIAINEN et. al., 2001).

Experimentos realizados utilizando xilitol demonstraram que as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (causadoras de doenças pulmonares) não usam xilitol para crescimento, o que faz reduzir a concentração de sais no líquido e elevar a atividade antibiótica natural dos pulmões. Com isso, pode-se dizer que o xilitol fortalece o sistema de defesa natural dos pulmões, inibindo o estabelecimento de infecções bacterianas, como por exemplo, a pneumonia (ZABNER et. al., 2000).

Pacientes com patologias respiratórias apresentam congestionamento nasal, dificuldade respiratória e problemas pulmonares, nesses é recomendado a irrigação nasal para facilitar a respiração. Estudos demonstram que o xilitol aplicado como spray nasal

diminui a carga bacteriana e eleva os mecanismos de defesa local (ZABNER et. al., 2000). O xilitol também inibe a propagação de *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*, bactérias causadoras das infecções respiratórias e da sinusite (TAPIAINEM et. al., 2001).

3.2.1.6. Traumatologia

No campo da traumatologia, o xilitol vem sendo utilizado para produzir poliésteres ramificados, como por exemplo, o hidroxipropilxilitol, cujas características mecânicas e termofísicas são semelhantes às da espuma de poliuretano, mais comumente usados em próteses, porém, são menos deformáveis e não absorvem água apresentando-se assim, vantajoso em relação ao poliuretano (SANRÓMAN et. al. 1991).

3.2.1.7. Ginecologia

O equilíbrio do ecossistema vaginal é mantido por complexas interações entre a flora vaginal dita normal, os produtos do metabolismo microbiano, o estado hormonal e a resposta imune do hospedeiro (GIRALDO et. al., 2005).

O mecanismo fisiológico de defesa do trato genital feminino mais importante contra vaginites é a microbiota láctica, caracterizada pela presença de lactobacilos, que em sua maioria correspondem a *Lactobacillus acidophilus*. Os lactobacilos convertem o glicogênio em ácido láctico e o pH vaginal torna-se ácido. O predomínio de *Lactobacillus spp.*, capazes de produzir H₂O₂ e ácido láctico, contribui para a inibição do crescimento de vários micro-organismos nocivos à mucosa vaginal (OLIVEIRA; SOARES, 2007).

Alguns fatores externos, como o uso de contraceptivos orais e a eliminação da flora normal por antibióticos, causa um distúrbio desse ecossistema podendo levar à inflamação da vagina (TORTOLA; FUNKE; CASE, 2005). Esses processos inflamatórios podem ser acompanhados por processos infecciosos determinados por agentes microbiológicos, sendo mais comuns os determinados por inversão da flora vaginal normal, caracterizando a vaginose bacteriana, e os desencadeados por *Candida spp.* e *Trichomonas vaginallis* (RIBEIRO et. al., 2007).

As preparações usadas no tratamento de infecções vaginais podem ser administradas de diversas formas, como sprays, cremes, espumas, supositórios, géis, óleos, polímeros de liberação controlada, cápsulas vaginais, esponjas vaginais, entre outros. As preparações podem também ser aplicadas por inserção vaginal (KIMBERLY CLARK CO., 2009).

Entre as formas de administrar, a Kimberly Clark Co. (2006), desenvolveu formulações para o tratamento de vaginoses utilizando o xilitol como um agente terapêutico, ou seja, um agente capaz de inibir ou tratar a infecção vaginal, mais especificamente, inibir e/ou matar *Gardenerella*, *Trichomonas* e/ou *Candida* quando exposto a ele.

O agente terapêutico é geralmente colocado em contato com a vagina em uma quantidade necessária para atingir o efeito terapêutico necessário. A quantidade ideal é aquela suficiente para inativar, mas não necessariamente matar os micro-organismos responsáveis pela infecção (KIMBERLY CLARK CO., 2010).

O xilitol é metabolizado em glicose e glicogênio ou piruvato e lactato no fígado. No entanto, muitas bactérias são incapazes de utilizar o xilitol como uma fonte de energia, e como tal, a sua presença pode ser prejudicial para algumas bactérias (KIMBERLY CLARK CO., 2010).

Dessa forma, o xilitol é empregado, pois, além de agir inibindo os micro-organismos patogênicos, não agredir a flora vaginal natural é também um composto seguro e de custo acessível (KIMBERLY CLARK CO., 2006).

3.2.1.8. Oftalmologia

O glaucoma é a designação de um grupo de doenças que atingem o nervo ótico e envolvem a perda de células glandionares da retina em um padrão característico de neuropatia óptica, caracterizada por perda de campo visual. A pressão intra-ocular elevada é um fator de risco significativo para o desenvolvimento de glaucoma (DAMASCENO; RESENDE, 2000).

A produção do humor aquoso se dá através do sistema vascular da úvea (íris, corpo ciliar e coróide), especialmente por meio do sistema vascular dos vasos ciliares e as células

epiteliais do corpo ciliar. Já sua drenagem é feita através do sistema trabecular. Quando o equilíbrio entre a produção e a drenagem do humor aquoso é quebrado, doenças relacionadas à pressão intra-ocular se desenvolvem (BASOTHERM GMBH, 1996).

A pressão intra-ocular é reduzida pelo uso de drogas que atuam no sistema trabecular e no sistema vascular da úvea. A penetração do fármaco na córnea requer um equilíbrio de características hidrofóbicas e hidrofílicas. A droga deve ser suficientemente solúvel em meios não polares para se difundir na córnea, e suficientemente solúvel em meios polares (aquosos) para se difundir para o humor aquoso (fora da córnea) (DUKE UNIVERSITY, 2006).

O aumento da pressão ocular pode ser tratado com β -bloqueadores, que provocam uma redução na produção de humor aquoso pela vasoconstrição do sistema vascular da úvea. Seu uso, porém, apresenta um efeito negativo sobre o fluxo sanguíneo ocular. Esse efeito negativo pode ser contornado se usados compostos com efeito osmorregulatório. Porém, a administração oral ou intravenosa de substâncias hipertônicas, como a uréia ou polióis, que apresentam esse efeito sobre o fluido intra-ocular, envolve, em certos casos, consideráveis efeitos colaterais sistêmicos. Por causa disso, é desejável que se desenvolva um método de tratamento no aumento da pressão intra-ocular por aplicação tópica no olho, que seja possível uma drenagem do humor aquoso restrita, ou seja, somente no local desejado e portanto, diminuindo a pressão intra ocular, assim, evitando os efeitos colaterais acima citados (BASOTHERM GMBH, 1996).

Atualmente, foi identificada que a aplicação tópica de uma solução oftálmica contendo como substância ativa uma quantidade terapeuticamente eficaz de um poliól, como o xilitol, em um suporte tolerado pelo olho, pode reduzir significativamente o aumento da pressão intra-ocular, através da aplicação restrita e local e, a baixa concentração da substância ativa resultam na ausência de algum efeito negativo sobre o fluxo sanguíneo ocular (BASOTHERM GMBH, 1996).

3.3. Produção de Xilitol

O xilitol é um composto naturalmente encontrado em frutas, vegetais, líquens, algas e cogumelos, mas somente em pequenas quantidades (MANZ; VANNINEN; VOIROL, 1973; PARAJÓ et. al., 1998a). Pode ser extraído destas fontes por extração sólido-líquido

(Figura 2.8), porém, em função de sua baixa concentração (menos que 900 mg/100g), este processo é inviável economicamente (EMODI, 1978). Em resumo, na Figura 4, encontram-se as tecnologias disponíveis para produção de xilitol⁷ (PARAJÓ et. al., 1998b apud Rodrigues, 2005).

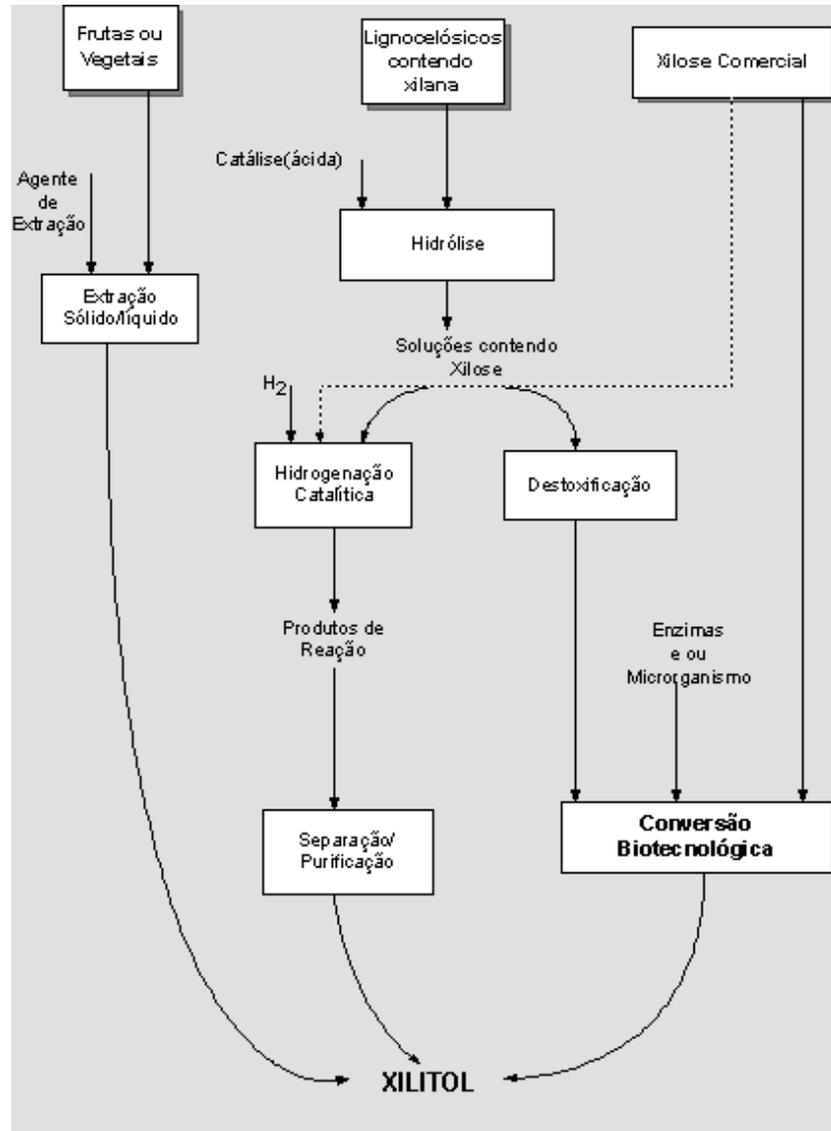


Figura 4 – Tecnologias disponíveis para a produção de xilitol.

O xilitol é um produto intermediário do metabolismo de carboidratos no homem e em animais. Um homem adulto é capaz de produzir de 5g a 15g desse poliálcool por dia, e a concentração no sangue dessa substância pode variar de 0,03 à 0,06 mg/100mL. O metabolismo do xilitol ocorre independentemente da insulina o que propicia sua utilização

⁷ PARAJÓ, J. C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUES, J. M. Biotechnological production of xylitol, Part 1: Interest of xylitol and fundamentals of its biosynthesis. **Bioresource Technology**, v. 65, p. 191-201, 1998b.

na dieta de pacientes diabéticos bem como por obesos, uma vez que exerce uma pequena contribuição para a formação de tecidos gordurosos quando comparado a outros açúcares (MANZ; VANNINEN; VOIROL, 1973).

Produção de polióis (xilitol, sorbitol, maltitol, manitol, eritritol, lactol e isomalte) para alimentos e aplicações farmacêuticas é possível somente em plantas sofisticadas. O custo de produção é dominado pelo capital e custo da matéria prima. Pode se conseguir economia no processo através de plantas grandes e de múltiplas finalidades, permitindo a produção de vários polióis numa única planta⁸ (BUSINESS COMMUNICATIONS Co., INC. 2002 apud Rodrigues, 2005).

3.3.1. Processo Químico

Atualmente, o xilitol é produzido comercialmente pela via química a partir de xilose. O processo envolve primeiramente a pré-hidrólise do material lignocelulósico rico em xilana (MIKKOLA et. al., 1999). Os hidrolisados são concentrados e submetidos a tratamentos físico-químicos, como por exemplo, troca iônica ou cromatografia para a obtenção de um xarope de xilose puro, indispensável para a posterior hidrogenação (BAUDEL et. al., 2005; WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998). Esta, por sua vez, é realizada em presença de catalisador níquel de Raney em reatores de altas temperaturas e pressão, pois, a presença de outros açúcares geram subprodutos que são indesejados, entre eles o arabitol, ribitol, manitol e sorbitol (MIKKOLA et. al., 1999). A solução resultante é concentrada e o xilitol é recuperado através de sua cristalização, resultando em um produto com 99,7% de pureza e rendimento entre 50% e 60% em relação à xilose inicial (NIGAM; SINGH, 1995).

O processo químico de obtenção de xilitol (Figura 5) tem sido considerado um processo oneroso e impactante ao meio ambiente devido à utilização excessiva de fontes naturais de madeiras, tornando a produção de xilitol pela via biotecnológica uma alternativa promissora⁹ (TADA et. al., 2004 apud Rodrigues, 2005). O rendimento deste

⁸BUSINESS COMMUNICATIONS COMPANY INC. - The global market for polyols. Disponível em: http://www.the-infoshop.com/study/bc8013_polyols.html. Acesso em: 15/10/2002.

⁹TADA, K.; HORIUCHI, I.; KANNO, T.; KOBAYASHI, M. Microbial xylitol production from corn cobs using *Candida magnolia*. **J.Biosci.Bioeng.**, v. 98, n. 3, p. 228-230, 2004.

processo, bem como a qualidade do xilitol está intimamente relacionado com a pureza da solução inicial de xilose, visto que a presença de impurezas interfere no processo de catálise. Além disso, a produção de xilitol por via química requer várias etapas de purificação para a remoção de resíduos tóxicos do catalisador e de subprodutos originados durante o processo de hidrogenação (MELAJA; HÄMÄLÄINEM, 1977), ocasionando aumento do tempo de processo e encarecimento do produto.

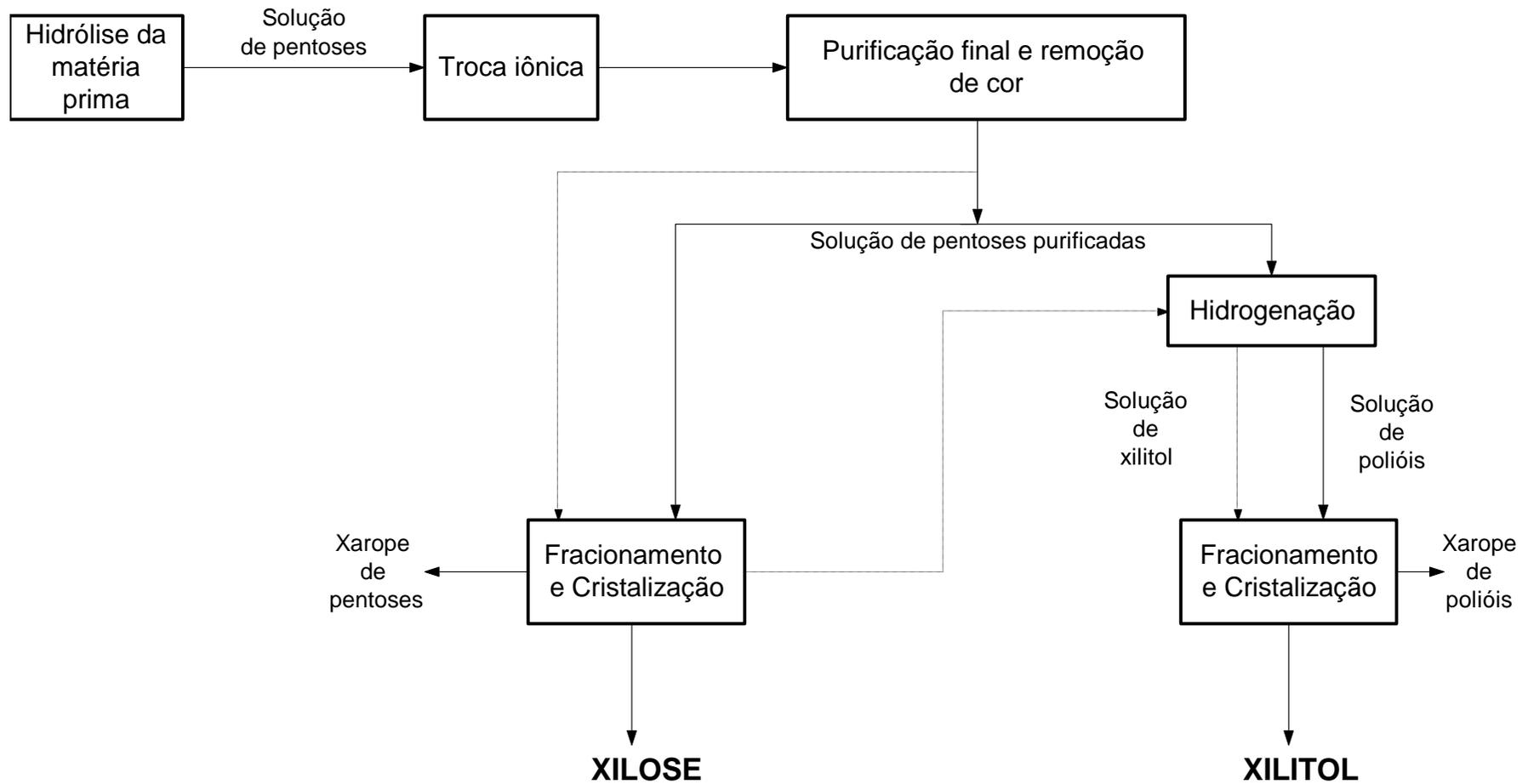


Figura 5 - Produção de xilose e xilitol (MELAJA, HÄMÄLÄÄINEN, 1977).

3.3.2. Processo Microbiológico

A produção biotecnológica do xilitol depende do potencial de bioconversão microbiana de xilose em xilitol. Diversos micro-organismos podem ser utilizados na produção de xilitol (PANDEY et. al., 2000). Entre as bactérias ativas, podem ser citadas espécies de *Cornynebacterium* e *Enterobacter*, que produzem xilitol a partir de pentoses (YOSHITAKE et. al., 1971). Fungos e leveduras também podem ser utilizados para a bioconversão de xilose à xilitol, sendo o mais importante o gênero *Candida* (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998). Dentro desse gênero, *Candida guilliermondii* tem se mostrado uma espécie promissora para a produção de xilitol (SILVA; MUSSATO; ROBERTO, 2006, RODRIGUES, 2005).

Micro-organismos que utilizam a xilose para a produção de xilitol como um produto intermediário de uma via metabólica envolvem reações redox sequenciais catalisadas por duas enzimas, a xilose redutase (NADH ou NADPH dependente) e a xilitol desidrogenase (NAD⁺ ou NADP⁺ dependente) em presença de um cofator. A xilose redutase catalisa a redução inicial da xilose em xilitol e a xilitol desidrogenase catalisa a subsequente oxidação de xilitol para xilulose (RAVELLA et. al., 2012).

A xilulose pode então ser fosforilada a xilulose-5-fosfato, molécula que pode ser convertida, através de reações não oxidativas da via pentose monofosfato, à gliceraldeído-3-fosfato e frutose-6-fosfato. Esses compostos podem ser metabolizados pela via Embden-Meyerhof-Parnas, que está conectada a outras vias como o ciclo de Krebs e às reações de fermentação alcoólica (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998).

A produção biotecnológica requer um fornecimento constante de NADPH para restringir ainda mais a oxidação de xilulose (RAVELLA et. al., 2012), uma vez que sob essas condições (limitação de oxigênio), observa-se o acúmulo de xilitol, pois a capacidade da cadeia respiratória de recuperação do cofator oxidado é baixa, o que acarreta em uma diminuição na atividade da xilitol desidrogenase, diminuindo conseqüentemente a taxa de transformação de xilitol em xilulose (NÁHLÍK et. al., 2003).

Na Figura 6 encontra-se o metabolismo inicial de xilose em leveduras proposto por BARBOSA et. al. (1988).

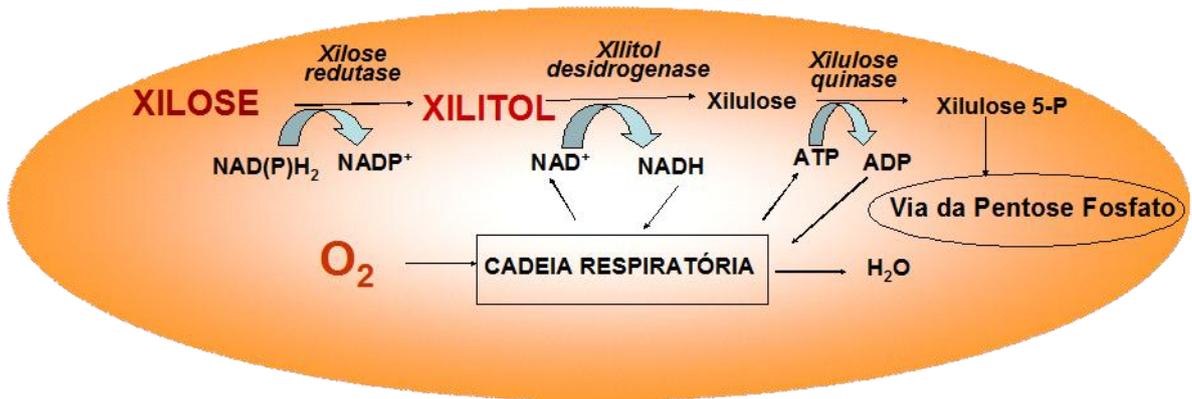


Figura 6 - Conversão microbiológica de xilose a xilitol em leveduras¹⁰ (BARBOSA et. al., 1988 apud Rodrigues, 2005)

No metabolismo de xilose em leveduras (Figura 7) verifica-se a formação de etanol, glicerol como também dióxido de carbono, ácido acético e polissacarídeos. A formação destes produtos dependerá da regulação do fluxo de carbono nas rotas metabólicas. A conversão de D-xilose em xilitol em leveduras não pode ser separada da conversão de D-xilose nestes produtos. O crescimento celular depende de alguns destes produtos do metabolismo, sendo estes necessários para regeneração dos co-fatores através de diferentes passos na via metabólica. Entretanto, para se obter elevados rendimentos em xilitol, a quantidade de xilose a ser convertida em xilitol e a quantidade de xilitol a ser disponibilizado para favorecer o metabolismo, tem que ser bem balanceado (GRANSTROM; ARISTIDOU; LEISOLA, 2002).

¹⁰BARBOSA, M. F. S.; MEDEIROS, M. B.; MANCILHA, I. M.; SCHNEIDER, H.; LEE, H. Screening of Yeast for Production of Xylitol from D-Xylose and Some Factors Which Affect Xylitol Yield in *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, Amsterdam, v. 3, p. 241-251, 1988.

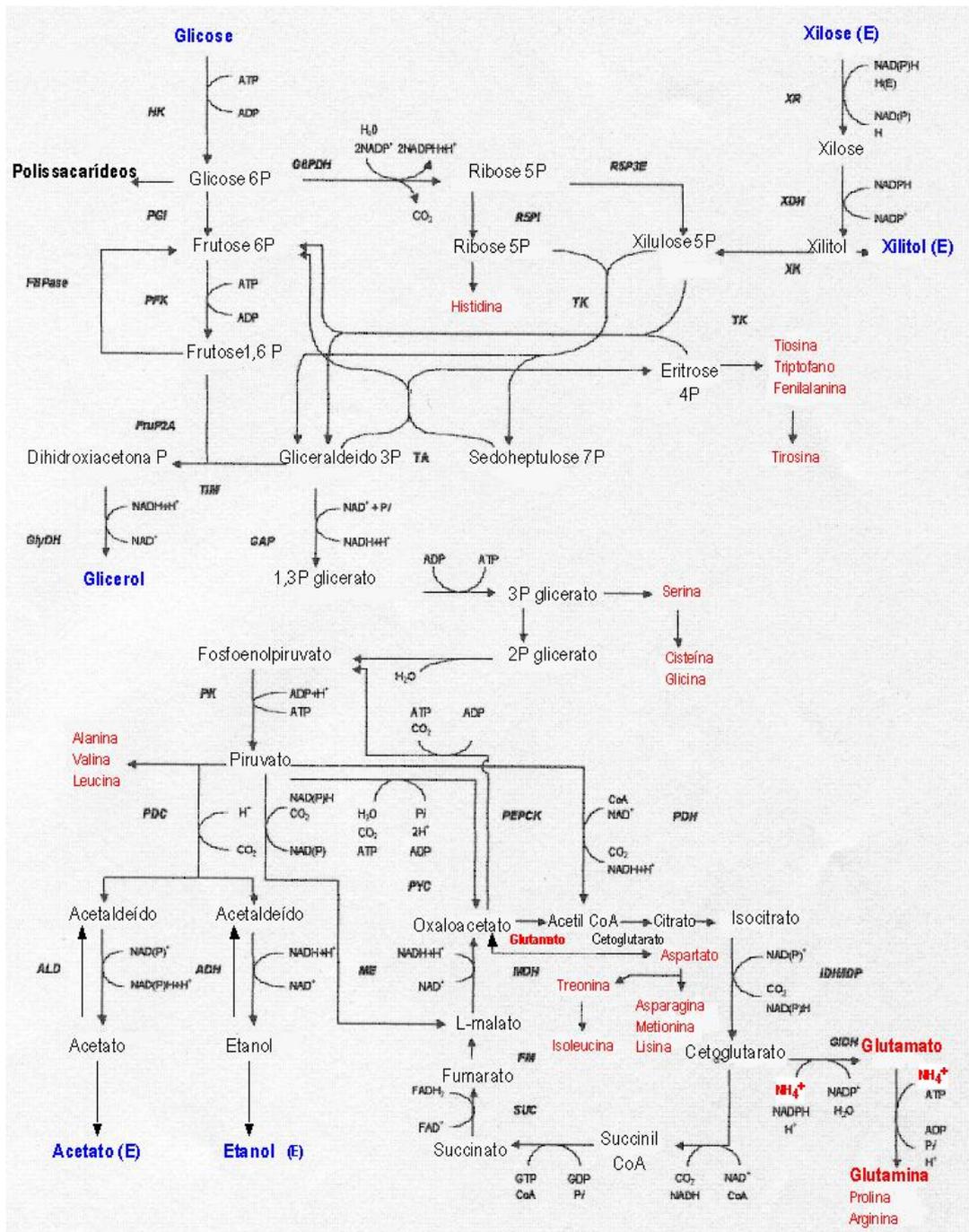


Figura 7 - Metabolismo de xilose e glicose em leveduras fermentadoras de xilose¹¹ (GRANSTROM; ARISTIDOU; LEISOLA, 2002 apud Rodrigues, 2005).

¹¹GRANSTRÖM, T., ARISTIDOU, A. A., LEISOLA, M. Metabolic Flux Analysis of *Candida tropicalis* Growing on Xylose in an Oxygen-Limited Chemostat *Metabolic Engineering*, v.4,n.3, p248-256, Julho 2002.

3.3.3. Fatores que Influenciam a Produção de Xilitol pela via Biotecnológica

Apesar de muitas leveduras serem hábeis em converter xilose em xilitol com altos rendimentos em meio contendo xilose como fonte de carbono, esta fermentação pode ser prejudicada em meio formulado com hidrolisado hemicelulósico, uma vez que é um substrato complexo, que normalmente inclui diferentes compostos que são inibitórios ao metabolismo microbiano (ROBERTO, et. al., 1996a).

A bioconversão de xilose em xilitol nas leveduras é influenciada por vários fatores conforme resultado de diversas pesquisas. Dentre estes se destacam a concentração de inóculo (CHAN et. al., 1989; FELPE et. al., 1996 e 1997a; VANDEDSKA et. al., 1993; RODRIGUES, 2005), e de xilose (OJAMO et. al., 1988; MEYRIAL et. al., 1991; NOLLEAU et. al., 1993, RODRIGUES, 2005), a presença de glicose (BICHO et. al., 1988; du PREEZ et. al., 1986a; FELIPE et. al., 1993; SILVA et. al., 1990), o pH (du PREEZ et. al., 1986b; FELIPE et. al., 1997b; SLININGER et. al., 1990), a aeração (FURLAN et. al., 1991; FELIPE et. al., 1996a; KIM et. al., 1997; SILVA et. al., 1990; NOLLEAU et. al., 1993, RODRIGUES, 2005), os nutrientes (ROBERTO et. al., 1996a, RODRIGUES, 2005), a temperatura (BARBOSA et. al., 1988; CONVERTI et. al., 2001) e outros fatores ambientais tem sido estudados na produção de xilitol.

3.3.3.1. Concentração inicial de substrato: xilose e glicose

A presença de glicose no meio pode ser considerada um fator limitante para a bioconversão de xilose em xilitol, reduzindo o consumo de xilose e a produtividade em xilitol por repressão catabólica (BICHO et. al., 1988). Felipe et. al.(1993), cultivando a levedura *Candida guilliermondii* em hidrolisado de bagaço de cana, verificaram que o efeito da glicose estava relacionado à relação glicose/xilose presente no meio, sendo que quanto maior esta proporção, maior é a inibição causada pela glicose. Quando a concentração inicial de glicose foi inferior à 10% da concentração inicial de xilose, a produção de xilitol não foi afetada.

Segundo Gírio et. al. (2000), altas concentrações de glicose favorecem a repressão catabólica sobre as enzimas-chaves responsáveis pela bioconversão (xilose redutase e xilitol desidrogenase), causando a diminuição das atividades enzimáticas. Lee et. al. (2003)

observaram que, em um processo fermentativo contendo estes dois substratos, a glicose é usada como fonte de energia para o crescimento celular, e como um co-substrato para regeneração de cofatores, enquanto que a xilose é utilizada como substrato primordial para a conversão em xilitol.

Assim como a concentração de glicose no meio de cultura, a concentração inicial de xilose tem também um importante impacto sobre a produção de xilitol por leveduras. Os rendimentos de produção se apresentam baixo quando a concentração inicial de xilose é baixa, aumentando a concentração de xilose, um maior percentual de substrato é dirigido à produção de xilitol, aumentando assim o rendimento (CONVERTI et. al., 2002). Por outro lado, uma concentração muito alta de xilose pode acarretar em inibição pelo substrato e uma pressão osmótica elevada do meio, diminuindo assim o rendimento (KIM et. al., 2002).

A produção de xilitol por *Candida tropicalis* em meio YME (extrato de levedura, extrato de malte, peptona, xilose) foi favorecida quando se aumentou a concentração de xilose de 50g/L para 200g/L. Entretanto, em concentrações de xilose superiores a 300g/L, verificou-se a interferência negativa na produção de xilitol (GONG; CHEN; TSAO, 1981).

Mussato et. al. (2008) empregando a levedura *Candida guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de malte de cerveja estabeleceram a concentração inicial ótima de xilose e de suplementos no meio de cultivo. Os experimentos envolveram testes com diferentes concentrações de xilose, 55, 75 e 95 g/l, com ou sem suplementação do meio com outros nutrientes (sulfato de amônio, cloreto de cálcio e extrato de farelo de arroz). Os resultados obtidos mostraram um efeito negativo da xilose, ou seja, os valores obtidos para os parâmetros analisados (conversão de substrato em células - $Y_{X/S}$, rendimento de produto por massa celular - $Y_{P/X}$ e a produtividade volumétrica de xilitol - Q_P) aumentavam à medida que se diminuía a concentração de xilose. Esse comportamento, no entanto, não foi linear, e o valor ideal encontrado para a concentração inicial da xilose foi de 70 g/L. Foi constatado também que os valores obtidos para os parâmetros analisados foram superiores quando obtidos dos meios não suplementados. Sob tais condições, os valores obtidos para os parâmetros foram de: $Y_{X/S} = 0,78$ g/g, $Y_{P/X} = 5,81$ g/g e $Q_P = 0,58$ g/l.h. Foi concluído que a concentração inicial ideal de xilose no meio, bem como sua suplementação dependem do tipo de micro-organismo utilizado e das condições de cultivo (MUSSATO; ROBERTO, 2008).

3.3.3.2. Fonte de nitrogênio

O tipo e a concentração da fonte de nitrogênio são fatores essenciais na produção de xilitol por fermentação, no entanto as influências de ambas dependem da levedura. Em geral, as fontes orgânicas de nitrogênio como ureia, extrato de levedura, arroz, peptona etc. permitem obter maiores produtividades e rendimentos quando comparados com fontes inorgânicas de nitrogênio (BARBOSA et. al., 1988; KIM; MOON, 2003; VANDESKA et. al., 1995).

Rodrigues (2005) estudou a adição de sulfato de amônio em conjunto com o farelo de arroz e biotina em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana e observou que somente as adições de sulfato de amônio concomitantemente com farelo de arroz favoreceram a produtividade volumétrica do xilitol, bem como o fator de conversão de xilose a xilitol por *Candida guilliermondii*, enquanto que a adição de biotina não influenciou estes parâmetros fermentativos.

Barbosa et. al. (1988) conduziram um experimento utilizando 5,0g/L de sulfato de amônio (fonte inorgânica) e 5,0g/L de ureia (fonte orgânica) em fermentações com *C. guilliermondii* em meio sintético, e observaram que a utilização do meio com uréia resultou em maior favorecimento da bioconversão, quando comparado com o uso de sulfato de amônio. Em experimentos realizados por Vandeska et. al. (1995) com a levedura *Candida boidinii* em meio sintético também, observaram um favorecimento da produção de xilitol quando a uréia foi utilizada como fonte de nitrogênio. Por outro lado, Roberto et. al. (1996a) em fermentações com *C. guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de palha de arroz, constataram maiores valores de produtividade em xilitol (0,51 g/L.h) e fator de conversão de xilose em xilitol (0,68 g/g) quando se utiliza sulfato de amônio como fonte de nitrogênio.

3.3.3.3. Concentração celular inicial

A concentração inicial de inóculo exerce grande influência sobre a bioconversão de xilose em xilitol e é dependente de outros fatores como o tipo de micro-organismo, a composição do meio e as condições da fermentação (SILVA, 1999). De acordo com Felipe et. al. (1996b) o cultivo de *C. guilliermondii* em hidrolisado hemicelulósico de eucalipto

para a produção de xilitol constatou-se que o aumento na concentração celular inicial promoveu uma melhora na formação de xilitol. No entanto, Roberto et al (1996b) empregando esta mesma levedura em hidrolisado hemicelulósico de palha de arroz observaram que o aumento na concentração celular, não favoreceu o consumo de xilose, a formação de biomassa e nem a produção de xilitol, o que segundo estes autores, poderia estar associado à baixa disponibilidade de oxigênio dissolvido no meio de cultivo.

3.3.3.4. pH

O pH ótimo dependerá da levedura escolhida para realizar a bioconversão de xilose à xilitol. O pH ótimo varia muito de acordo com a espécie a ser utilizada para a produção. Por exemplo, no caso de *C. guilliermondii*, o pH ótimo varia entre 5,5 e 6,0 (CONVERTI et. al., 2003). Em pH 4,5 o consumo de açúcar e a produção de xilitol foi totalmente inibida na bioconversão por *C. guilliermondii*, utilizando como meio de fermentação hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar tratado com óxido de cálcio. Nesse experimento, foi observado que a máxima concentração de xilitol foi obtida em pH=5,5 (25,9 g/L), com fator de conversão em 0,75 g/g e produtividade 0,57 g/l.h (FELIPE et al., 1997b). Já em hidrolisado de cana-de-açúcar tratado com óxido de cálcio e carvão ativado, os valores máximos de conversão e produtividade foram obtidos em pH=7,0 (0,79 g/g e 0,56 g/l.h respectivamente), também empregando *C. guilliermondii* (MORITA et al., 2000).

Nota-se assim que, a diferença no tratamento dos hidrolisados de bagaço de cana-de-açúcar, proporcionaram valores similares de fator de conversão e produtividade volumétrica para ambos os casos, porém foram obtidos em valores diferentes de pH (MORITA et al., 2000).

3.3.3.5. Temperatura

As leveduras produzem xilitol entre 24°C-45°C, porém, a temperatura ótima é geralmente entre 28°C e 30°C, variando de acordo com o micro-organismo; a temperatura ótima da *Candida guilliermondii* é 28°C (CONVERTI et. al., 2003). Quando as fermentações são realizadas em temperaturas diferentes de sua temperatura ótima,

rendimentos e produtividades podem ser negativamente afetados. (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998)

3.3.3.6. Concentração de Oxigênio Dissolvido

A concentração de oxigênio dissolvido é um dos mais importantes parâmetros para ser considerado em uma produção de xilitol, uma vez que não influencia apenas fatores operacionais, mas também a fisiologia da levedura (GÍRIO et. al., 1994). O fator de conversão em xilitol depende da velocidade de transferência de oxigênio (NOLLEAU et. al., 1995), em condições de aerobiose ocorre maior produção de massa celular, enquanto que em condições limitadas de oxigênio, grande parte da xilose é convertida em xilitol (BRUINENBERG et. al., 1984). Sob condições anaeróbicas ou em taxas de transferência de oxigênio muito baixas, o sistema de transporte de elétrons é incapaz de oxidar completamente o NADH intracelular (MORAES, 2008) reduzindo a velocidade de reação da enzima xilitol desidrogenase e determinando o acúmulo de xilitol no meio (HAHN-HÄGERDAL et. al., 1994).

Sendo assim, a taxa de transferência de oxigênio (OTR), o coeficiente de transferência de oxigênio (k_La) e a taxa específica de consumo de oxigênio (q_{O_2}) são parâmetros críticos a serem estritamente controlados durante a bioconversão de xilose à xilitol (AGUIAR et. al., 2002; NOBRE et. al., 2002). Roberto, Mancilha e Sato (1999) estudaram o efeito do k_La em fermentação descontínua, cultivando *C. guilliermondii* em hidrolisado de palha de arroz, com um concentração inicial de xilose em 62g/L. Estes autores encontraram máximos valores de produtividade volumétrica e concentração de xilitol quando empregaram agitação de 300 rpm e à aeração de 1,3 vvm ($k_La= 15h^{-1}$).

Morita e Silva (2000) estudaram o efeito da aeração na produção de xilitol em hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar cultivando também *C. guilliermondii* e observaram que os máximos valores de produtividade volumétrica e concentração de xilitol foram obtidos com agitação de 300rpm e agitação de 3,0 vvm ($k_La= 22,5h^{-1}$).

Valores ideais para produção de xilitol por *C. parasilopsis* são: OTR= 65,7 – 211,7 mg/L.h e $k_La= 9,0 - 36,1h^{-1}$ (ARRANDAS-BARRANDAS et. al., 2000), por *C. boidinii* $k_La= 26 - 78h^{-1}$ e *D. hanseii* $q_{O_2} = 47,9 \text{ mg/gMS L}$ (SAMPAIO et. al., 2004).

De forma geral, para que o processo seja eficiente, é muito importante determinar o fluxo de oxigênio que permitirá uma utilização balanceada do carbono tanto para o crescimento para a produção de xilitol (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998).

3.3.3.7. Inibidores no meio de fermentação: hidrolisados hemicelulósicos

Os materiais lignocelulósicos representam uma das maiores fontes de carbono e energia renovável da Terra. Estes incluem vários resíduos agroindustriais como palhas, bagaços, cascas e cavacos, provenientes da produção agrícola, beneficiamento de cereais e inúmeras transformações operadas com esses recursos naturais (FONSECA, 2009). A bioconversão de xilose em xilitol é afetada pela presença de compostos inibitórios provenientes da degradação da estrutura lignocelulósica (PARAJÓ; DOMINGUEZ; DOMINGUEZ, 1998a).

Os inibidores podem ser divididos em três grandes grupos, de acordo com a sua origem: derivados da degradação das pentoses e hexoses (furfural e hidroximetilfurfural); derivados do grupo acetil da hemicelulose (ácido acético) e derivados da degradação da lignina (compostos fenólicos) (Figura 8). (LOHMEIER-VOGEL; SOPHER; LEE,1998).

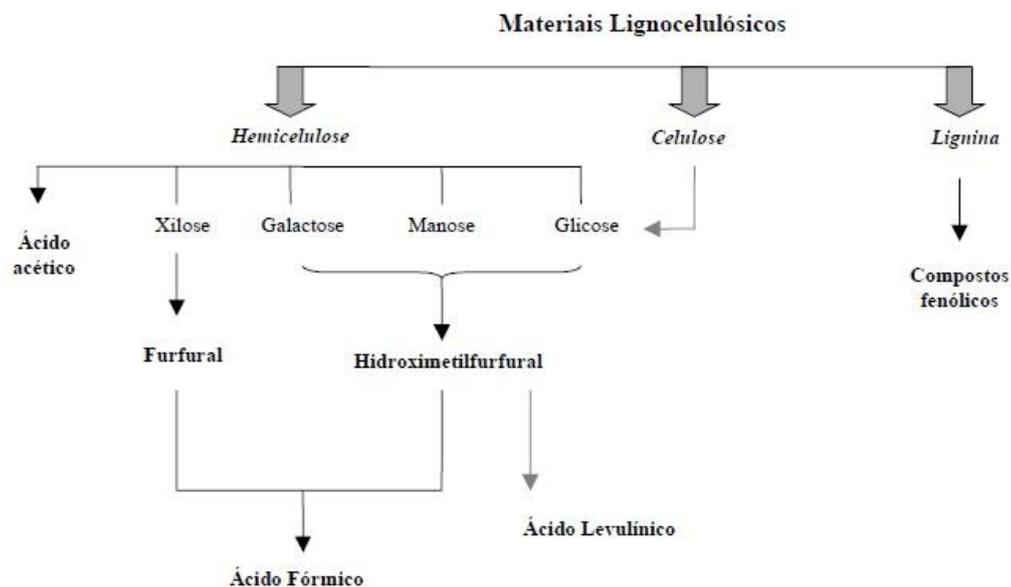


Figura 8 – Principais inibidores (em negrito) formados durante a hidrólise.

O furfural e o hidroximetilfurfural são produtos formados pela desidratação de pentoses e hexoses (Figura 8), respectivamente. Esses dois compostos retardam o processo fermentativo no início da fermentação e inibem o crescimento da levedura *Candida guilliermondii* (SANCHES; BAUTISTA, 1998).

O ácido acético, tem sua ação inibitória atribuída à sua forma não dissociada que depende do pH do meio. Sua toxicidade é aumentada em valores de pH inferiores ao seu pK_a (4,75), pois nesse caso, a maioria das moléculas se encontram na sua forma não dissociada, podendo assim, passar mais facilmente através da membrana citoplasmática. Ao encontrar no interior da célula valores mais elevados de pH, dissocia-se, diminuindo o pH intracelular a valores abaixo do valor ideal, inibindo a atividade da célula, que pode chegar até a morte (LOHMEIER-VOGEL; SOPHER; LEE, 1998).

O efeito inibitório do ácido acético não depende somente de sua concentração, mas também da fase de crescimento da levedura, uma vez que o maior efeito inibitório foi observado quando as células foram expostas a 5,0g/L de ácido após 12 horas de cultivo, o que corresponde à fase de máxima atividade metabólica da levedura (SILVA, 2001).

Dentre os inibidores do metabolismo da xilose, os produtos derivados da degradação da lignina são mais tóxicos que o furfural e o hidroximetilfurfural, já que foi observado que concentrações menores que 0,1g/L desses compostos no meio de cultura apresentam um elevado potencial inibitório (CLARK; MACKIE, 1984).

O mecanismo envolvido na toxicidade dos compostos fenólicos com as células está relacionado à perda da integridade da membrana celular, interferindo em sua capacidade de atuar como uma barreira seletiva, o que reduz o crescimento celular e a assimilação de açúcares (PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000).

3.4. Vantagens da via Biotecnológica de Produção de Xilitol

A via biotecnológica de obtenção apresenta algumas vantagens quando comparada ao processo de obtenção por via química. Dentre elas podemos citar:

- A conversão ocorre em condições mais brandas de pressão e temperatura concomitantemente com menor formação de subprodutos (NIGAM; SINGH, 1995; WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998).

- Não há a necessidade da utilização de xilose pura, uma vez que os microorganismos são capazes de converter xilose em xilitol diretamente a partir do hidrolisado hemicelulósico (HOU-RUI, 2012).
- Não há formação de resíduos tóxicos que necessitam ser removidos na etapa de purificação (TADA et. al., 2004).
- Apresenta menor impacto ambiental, pois não utiliza nenhum catalisador químico durante o processo, havendo assim, a redução na toxicidade dos efluentes. Além disso, pode-se citar o uso de recursos renováveis, como a biomassa vegetal (SARROUH, 2009).

Dentre essas vantagens, as três primeiras citadas estão intimamente ligadas ao custo de processo, dessa forma, como as condições são mais brandas, não há a necessidade do uso de xilose pura e também não há formação de resíduos tóxicos que necessitam uma purificação complexa, o que pode contribuir para que o processo biotecnológico se apresente mais economicamente viável (SARROUH, 2009).

CAPÍTULO IV

4. METODOLOGIA

Foi empregado o estudo exploratório-descritivo através de pesquisa bibliográfica, da utilização de dados secundários oriundos de publicações e resultados de pesquisas específicas sobre as aplicações do xilitol, assim como suas vias de obtenção.

CAPÍTULO V

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base na retrospectiva dos estudos realizados sobre o xilitol, podemos afirmar que, a indústria alimentícia é a que mais utiliza o xilitol, na composição de alimentos especiais, seguida da indústria farmacêutica na prevenção principalmente de cáries. Porém foi visto também que há um aumento cada vez maior no emprego do xilitol em outras áreas clínicas.

O uso do xilitol em aplicações clínicas vem sendo amplamente estudado, pois é um composto que praticamente não possui efeitos colaterais quando ingeridos em quantidades recomendadas, além disso, o xilitol pode ser manipulado de diversas formas, não somente pela via oral, mas também em cremes e spray.

Como o xilitol não é um antibiótico, não provoca a imunização de bactérias, podendo ser utilizado na prevenção de diversas doenças sem que haja a preocupação de surgimento de uma cultura bacteriana mais resistente.

Apesar da via de obtenção utilizada majoritariamente na indústria ser a via química, a obtenção biotecnológica vem ganhando cada vez mais espaço devido suas vantagens, como menor custo, maior rendimento e menor complexidade do processo. Apesar das vantagens, o processo biotecnológico ainda não atende à demanda industrial, sendo necessários ainda estudos para que essa via se torne viável o mais breve possível.

Observa-se ainda o uso de diferentes matérias-primas para a produção de xilitol, como hidrolisados de bagaço de cana-de-açúcar, palha de arroz, eucalipto entre outras. No Brasil, a matéria-prima mais comumente utilizada é o bagaço de cana-de-açúcar devido a sua produção em grandes quantidades, sendo assim, a escolha da matéria-prima é então determinada pela sua disponibilidade local.

A bioconversão de xilose a xilitol depende de alguns fatores intrínsecos ao processo de produção e nesse trabalho pudemos perceber que todas as variáveis, em conjunto, interferem no rendimento, produtividade e conversão do substrato ao produto e não somente um fator isolado. Apesar de, o xilitol ser produzido pela via química industrialmente, a via bioquímica pode ser uma opção para o futuro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, W. B.; FARIA, L. F. F.; COUTO, M. A. P. G.; ARAÚJO, O. Q. F.; PEREIRA Jr, N. Growth model and prediction of oxygen transfer rate for xylitol production from D-xylose by *C. guilliermondii*. **Biochem Eng J**, v. 12, p. 49-59, 2002.

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.

ALMEIDA, L. M. A. G. O xilitol na Prevenção de Otite Média. V Manual de Otorrinolaringologia Pediátrica da IAPO. p. 54-56, 2008

ARRANDAS-BARRANDAS, J. S.; DELIA, M. L.; RIBA, J. P. Kinetic study and modelling of the xylitol production using *Candida parapsilosis* in oxygen-limited culture conditions. **Bioproc Eng**, v. 22, p. 219-225, 2000.

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

BARBOSA, M. F. S.; MEDEIROS, M. B.; MANCILHA, I. M.; SCHNEIDER, H.; LEE, H. Screening of Yeast for Production of Xylitol from D-Xylose and Some Factors Which Affect Xylitol Yield in *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, Amsterdam, v. 3, p. 241-251, 1988.

BASOTHERM GMBH (GERMANY). Franz Helmut; Kompa Hannes E.; Rozman Tibor. **Pharmaceutical composition for topical application to the eye treating increased intraocular pressure**.5527831, 18 jun. 1994.

BAUDEL, H. M.; ABREU, C. A. M.; ZAROR, C. Z. Xylitol production via catalytic hydrogenation of sugarcane bagasse dissolving pulp liquid effluents over Ru/C catalyst. **J Chem Technol Biotechnol**, n. 1, v. 34-35, p. 467-475, 2005.

BICHO, P. A.; RUNNALS, P. L.; CUNNIGHAM, J. D.; LEE, H. Induction of Xylose Reductase and Xylitol Dehydrogenase Activities in *Pachysolentannophilus* and *Pichiastipitis* on Mixed Sugars. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, n.1, p. 50-54, 1988.

BRASIL MEDICINA, 2001. Disponível em:
<http://www.brasilmedicina.com.br/noticias/_check_printnot.asp?Area=3&Cod=1383>.
Acesso em: 19 abr. 2014.

BRUINENBERG, P. M.; de BOT, P. H. M.; van DIJKEN, J. P.; SCHEFFERS, W. A. NADH- linked aldose reductase: the key to anaerobic alcoholic fermentation of xylose by yeasts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 19, p. 256-260, 1984.

BUSINESS COMMUNICATIONS COMPANY INC. - The global market for polyols. Disponível em: http://www.the-infoshop.com/study/bc8013_polyols.html. Acesso em: 15/10/2002.

CHAMPION, R.H.; PARISH, W.E. Atopic dermatitis. In: CHAMPION, R. H.; BURTON, J. L.; EBLING, F. J. G. (Eds) **Textbook of dermatology**. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1994. p.589-610.

CHAN, E.C.; UENG, P.P.; CHEN, L.F. Environmental Effects on D-Xylose Fermentation by *Shizosaccharomyces pombe*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v.20, n. 21, p. 221-232, 1989.

CHEMYUNION QUÍMICA LTDA (BRAZIL). Maria Del Carmen Velazquez Pereda, Marcio Antonio Polezel, Gustavo Campos Dieamant, Cecília Nogueira, Lilian Mussi, Marcos Roberto Rossan, Carlos Roque Duarte Correia, Nilton Soares Camilo. **Xylitol esters and ethers applied as alternative emulsifiers, solvents, co-emulsifiers and preservatives systems for pharmaceutical and cosmetic products**. US 2011/0251415 A1, 13 out. 2011.

CLARK, T. A.; MACKIE, K. L. Fermentation inhibitors in wood hydrolysates derived from the softwood *Pinus radiata*. **Chemical Technology and Biotechnology**, v 34, p. 101-110, 1984.

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) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2005.

CONVERTI, A.; PEREGO, P.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SILVA, S. S. Effect of temperature on the microaerophilic metabolism of *Pachysolentannophilus*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.28, n. 4-5, p. 339-345, Março 2001.

CONVERTI, A.; PEREGO, P.; SORD, A.; TORRE, P. Effect of starting xylose concentration on the microaerobic metabolism of *Debaromyces hansenii*: the use of carbon material balances. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 101, p. 15-29, 2002.

CONVERTI, A.; TORRE, P.; DE LUCA, E.; PEREGO, P.; DEL BORGHI, M.; SILVA, S. S. Continous xylitol production from synthetic xylose solutions by *Candida guilliermondii*: influence of pH and temperature. **Eng Life Sci**, v. 3, p. 193-198, 2003.

DA SILVA, S. S. et al. Xilitol: Um adoçante alternativo para indústria de alimentos. **Alim. Nutr.** São Paulo, 5, p. 109. 1993/1994.

DAMASCENO, E. F.; RESENDE, R. Glaucoma secundário a drogas, In: ALMEIDA, H. G.; DIAS, J. F. P. (Eds). Glaucoma. 1a ed. Rio de Janeiro: **Cultura Médica**, p. 265-270, 2000.

du PREEZ, J. C.; BOSCH, M.; PRIOR, B. A. The Fermentation of Hexose and Pentose Sugars by *Candida shehatae* and *Pichiastipitis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v.23, p. 228-233, 1986a.

du PREEZ, J. C.; BOSCH, M.; PRIOR, B. A. Xylose Fermentation by *Candida shehatae* and *Pichiastipitis*: Effects of pH, Temperature and Substrate Concentration. **Enzyme and Microbial Technology**, Surrey, v.8, p. 360-364, 1986b.

DUKE UNIVERSITY (USA). Eric J. Toone, David L. Epstein, PratapChalla, Phillip W. Snyder, Xin Chen, Mitchell A. deLong. **Ophthalmological Drugs**.US 2006/0135609 A1, 22 jun. 2006.

EMODI, A. Xylitol: Its Properties and food Applications. **Food Technology**, Chicago, January, p. 28-32, 1978.

ERRAMOUSPE, J.; HEYNEMAN, C. Treatment and prevention of otitis media. **Ann. Pharmacother**, v. 34, p. 1452-1468, 2000.

FELIPE, M. G. A.; VITOLO, M.; MANCILHA, I. M. Xylitol Formation by *Candida guilliermondii* Grown in a Sugar cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate; Effect of

Aeration and Inoculum Adaptation. **Acta Biotechnologica**, Berlin, v. 16, n.1, p. 73-79, 1996a.

FELIPE, M. G. A.; ALVES, L. A.; SILVA, S. S.; ROBERTO, I. C.; MANCILHA, I. M.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Fermentation eucalyptus hemicellulosic hydrolysate to xylitol by *Candida guilliermondii*. **Bioresource Technology**, v.56, p. 281-283, 1996b.

FELIPE, M. G. A.; MANCILHA, I. M.; VITOLO, M.; ROBERTO, I. C.; SILVA, S. S.; ROSA, S. A. M. Preparação de Xilitol por Fermentação de Hidrolisado Hemicelulósico de Bagaço de Cana-de-Açúcar. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.36, n.1, p.103-114, 1993.

FELIPE, M.G.A.; VITOLO, M.; MANCILHA, I.M.; SILVA, S.S. Environmental Parameters Affecting Xylitol Production from Sugar cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate by *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, Amsterdam, v.18, p. 251-4, 1997a.

FELIPE, M. G. A.; VITOLO, M.; MANCILHA, I. M.; SILVA, S. S. Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: Effect of pH. **Biomass and Bioenergy**, v.13, n. 1/2, p. 11-14, 1997b (in press).

FERREIRA, A. S. **Estudo de propriedades microbiológicas e toxicológicas do xilitol visando a sua aplicação no controle da dermatite atópica**. 2007. 117 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Universidade de São Paulo, Lorena, 2007.

FERREIRA, F. M. **Efeito do xilitol em pastilhas na composição de biofilme dental e na desmineralização e remineralização do esmalte**. 2007. 142 f. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

FONSECA, B. G. **Destoxificação biológica de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar empregando as leveduras *Issatchenkia occidentalis* e *Issatchenkia orientalis***. 2009. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009

FURLAN, S. A.; BOUILLOUD, P.; STREHAINO, P.; RIBA, J. P. Study of Xylitol Formation from Xylose under Oxygen Limiting Conditions. **Biotechnology Letters**, Middlesex, v.13, n.3, p. 203-206, 1991.

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

GIRALDO, P.C.; GONÇALVES, A. K. S.; MORENO LINHARES, I.; CORNETTA, M. C. M.; GIRALDO, H. P. D. **Patologia do trato genital**. 1a ed. São Paulo: Roca, 2005.

GIRIO, F. M.; AMARO, C.; AZINHEIRAL, H.; PELICA, F.; AMARAL-COLLAÇO, M. T. Polyols production during single and mixed substrate fermentations in *Debaromyomyces hansenii*. **Bioresource Technology**, v. 71, n. 3, p. 245-251, 2000.

GÍRIO F. M.; ROSEIRO, J. C.; SÁ-MACHADO, P.; DUARTE-REIS, A. R.; AMARAL-COLAÇO, M. T. Effect of oxygen transfer rate on levels of key enzymes of xylose metabolism in *Debaromyces hansenii*. **Enzyme Microb Technol**, v. 16, p. 1074-1078, 1994.

GONG, C.; CHEN, L. F., TSAO, G. T. Quantitative production of xylitol from D-xylose by a high xylitol producing yeast mutant *Candida tropicalis* HXP2. **Biotechnology Letters**, v. 3, n. 3, p. 125-130, 1981.

GRANSTRÖM, T., ARISTIDOU, A. A., LEISOLA, M. Metabolic Flux Analysis of *Candida tropicalis* Growing on Xylose in an Oxygen-Limited Chemostat Metabolic. **Engineering**, v.4,n.3, p248-256, Julho 2002.

HAHN-HÄGERDAL, B.; JEPSSON, H.; SKOOG, K.; PRIOR, B. A. Biochemistry and physiology of xylose fermentation by yeasts. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 16, p. 933-942, 1994.

HÄMÄLÄINEN, M. M.; MAKINEN, K. K. Relationship Between mineral Metabolism and Peroral Consumption of Sugar Alcohols. **Mineral and Electrolyte Metabolism**, Basel, v. 15, p. 346-352, 1989.

HYVÖNEN, L., KOIVISTOINEN, P., VOIROL, F. Food Technological Evaluation of Xylitol. **Advances in Food Research**, New York, v.27, p. 373-403, 1982.

HOU-RUI, Z. Key drivers influencing the large scale production of xylitol. In: SILVA, S. S.; CHANDEL, A. K. (Eds) **D-xylitol: fermentative production, application and commercialization**. Heidelberg: Springer, 2012. p. 267-289.

KANDELMAN, D. Sugar, alternative sweeteners and meal frequency in relation to caries prevention: new perspectives. **Brit. J. Nutr.**, v.77, p.S121-S128, 1997.

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.

KIEBERT, G.; SORENSEN, S. J.; REVICKI, D.; FAGAN, S.C.; DOYLE, J.J.; COHEN, J., et al. Atopic dermatitis is associated with a decremting health-related quality of life. **Int J Dermatol**. v. 41, p. 151-158, 2002.

KIM, J. H.; HAN, K. C.; KOH, Y. H.; RYU, Y. W.; SEO, J. H. Optimization of fed-batch fermentation for xylitol production by *Candida tropicalis*. **J IndMicrobiolBiotechnol**, v. 29, p. 16-19, 2002.

KIM, S. Y.; KIM, J. H.; OH, D. K. Improvement of Xylitol Production by Controlling Oxygen Supply in *Candida parapsilosis*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 83, p. 267-270, 1997.

KIM, S. B.; MOON, N. K. Enzymatic digestibility of used newspaper treated with aqueous ammonia-hydrogen peroxide solution. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 106, p. 365-373, 2003.

KIMBERLY CLARK CO (USA). Yang Shu P.; Huang Lei. **Compound and method for prevention and/or treatment of vaginal infections**.US2006106117, 18 maio 2006.

KIMBERLY CLARK CO (USA). Yang Shu; Huang Lei. **Compound and method for prevention and/or treatment of vaginal infections**.US2006106117, 18 maio 2006.

KIMBERLY CLARK CO (USA). Shu-Ping Yang, Lei Huang, Stephanie M. Martin, Julie Villanueva, Sharon Greene, Kelly Arehart, Curtis Sayre, Robert B. Johnson. **Xylitol for treatment of vaginal infections**. US7619008 B2, 17 nov. 2009.

KIMBERLY CLARK CO (USA).Stephanie M. Martin, Lei Huang, Shu-Ping Yang, Yanbin Huang, Julie Villanueva, Sharon Linda Greene, Kelly Arehart, Curtis Sayre, Robert B. Johnson. **Vaginal treatment compositions containing xylitol**.US7786176B2, 31 ago. 2010.

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

KONTIOKARI, T.; UHARI, M.; KOSKELA, M. Effect of xylitol on growth of nasopharyngeal bacteria in vitro. **Antimicrob Agent Chemother**, v. 39, p. 1820-1823, 1995.

LEE, W. J.; KIM, M. D.; YOO, M. S.; RYU, Y. W.; SEO, J. H. Effects of xlose reductase activity on xylitol production in two-substrate fermentation of recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 13, p. 725-730, 2003.

LOHMEIER-VOGEL, E. M.; SOPHER, C. R.; LEE, H. Intracellular acidification as a mechanism for the inhibition by acid hydrolysis-derived inhibitors of xylose fermentation by yeasts. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 20, p. 75-81, 1998.

MAIA, M. C. A. et al. **Análise sensorial de sorvetes à base de xilitol**. Campinas, p. 147, 2008.

MÄKINEN, K. K. Can the pentitol-hexitol theory explain the clinical observations made with xylitol? **Med Hypotheses**, v. 20, p. 303-320, 2000.

MÄKINEN, K. K.; ISOTUPA, K. P.; KIVILOMPO, T.; MÄKINEN, P. L.; TOIVANEN, J.; SÖDERLING, E. Comparison of erythritol and xylitol saliva stimulants in the control of dental plaque and *Streptococcus mutans*. **Caries Res.**, v.35, p.129-135, 2001.

MANZ, U.; VANNINEM, E.; VOIROL, F. Xylitol - Its properties and use as a sugar substitute in foods. In: **Food R. A. Symp. Sugar and Sugar Replacements**. London, 1973.

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

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

MATILLA, P. T.; SVANBERG, M. J.; KNUUTTILA, M. L. E. Dietary xylitol protects against osseal changes in experimental osteoporosis. In: BURCKHARDT P.; DAWSON-HUGHES, B.; HEANEY, R. P. (Eds) **Nutritional aspects of osteoporosis**. Heidelberg. Springer, 1998.

MATTILA, P.; KNUUTTILA, M.; KOVANEV, V.; SVANBERG, M. Improved bone biomechanical properties in rats after oral xylitol administration. **Calcified Tissue Int.** v. 64, p. 340-344, 1999.

MELAJA, A.J.; HÄMÄLÄINEN, L. Process for Making Xylitol. USN. 4.008.285.18 jun. 1975.15 fev. 1977.

MEYRIAL, V.; DELGENES, J. P.; MOLLETTA, R.; NAVARRO, J. M. Xylitol Production from D-Xylose by *Candida guilliermondii*: Fermentation Behaviour. **Biotechnology Letters**, Middlesex, v.13, n.4, p. 281-286, 1991.

MIKKOLA, J. P.; SJÖHOLM, R.; SALMI T.; MÄKI-ARVELA, P. Xylose hydrogenation: kinetic and NMR studies of the reaction mechanism. **Canal Today**, v. 48, p. 73-81, 1999.

MORAES, Elisangela de Jesus Candido. **Estudo da viabilidade econômica da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de palha de cevada**. 2008. 157 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2008.

MORITA, T. A.; SILVA, S. S. Inhibition of microbial xylitol production by acetic acid and its relation with fermentative parameters. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 84-86, p. 801-808, 2000.

MORITA, T. A.; SILVA, S. S.; FELIPE, M. G. A. Effects of initial pH on biological synthesis of xylitol using xylose-rich hydrolysate. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 84-86, p. 751-759, 2000.

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, 2012. p. 309-323.

MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 401-413, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v38n4/v38n4a03>>. Acesso em 06 mar. 2014.

MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Produção biotecnológica do xilitol a partir da palha de arroz. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 28, 2008.

NÁHLÍK, J.; PALATOVÁ, M.; GÍRIO, F.; ROSEIRO, C. Model identification and physiological control of xylitol production using *Debaryomyces hansenii*. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1695-1795, 2003.

NIGAM, P.; SINGH, D. Process for fermentative production of xylitol - a sugar substitute. **Process Biochem**, v.30, p. 117-124, 1995.

NOBRE, A.; DUARTE, L. C.; ROSEIRO, J. C.; GÍRIO, F. M.A physiological and enzymatic study of *Debaryomyces hansenii* growth on xylose - and oxygen-limited chemostats. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 59, p. 509-516, 2002.

NOLLEAU, V.; PREZIOSI-BELLOY, L.; DELGENES, J. P.; DELGENES, J. M. Xylitol Production from Xylose by Two Yeast Strains: Sugar Tolerance. **Current Microbiology**, Heidelberg, v. 27, p. 191-197, 1993.

NOLLEAU, V.; PREZIOSI-BELLOY, L.; NAVARRO, J. M. The reduction of xylose to xylitol by *Candida guilliermondii* and *Candida parapsilosis*: incidence of oxygen and pH. **Biotechnology Letters**, v. 17, n. 4, p. 417-422, 1995.

OJAMO, H.; YLINEN, L.; LINKO, M. Process for the Preparation of Xylitol from Xylose by Cultivation *Candida guilliermondii*. **Wo**, n. 88/05467.08 dez. 1987. 28 jul. 1988.

OLIVEIRA, E.H.; SOARES, L. F. Prevalência de vaginites infecciosas através da citologia clínica: um estudo no laboratório central de saúde pública do Piauí. **Rev Bras Anal Clin.**, v. 39, n. 1, p. 33-35, 2007.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. **BiosourceTechnology**, v. 74, p. 25-33, 2000.

PANDEY, A.; SOCOOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCOOL, V. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 69-80, 2000.

PARAJÓ, J. C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUES, J. M. Biotechnological production of xylitol, Part 3: Operation in culture media made from lignocellulose hydrolysates. **Bioresource Technology**, v. 66, p. 25-40, 1998a.

PARAJÓ, J. C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUES, J. M. Biotechnological production of xylitol, Part 1: Interest of xylitol and fundamentals of its biosynthesis. **Bioresource Technology**, v. 65, p. 191-201, 1998b.

PEREIRA, A. F. F. et al. Literature Review: Use of Xylitol for Prevention of Acute Otitis Media. **Int. Arch. Otorhinolaryngol**, v. 13, n.1 p. 97-92, 2009. Disponível em: <http://www.arquivosdeorl.org.br/conteudo/acervo_port.asp?Id=594>. Acesso em 19 abr. 2014.

RAVELLA, S. R.; GALLAGHER, J.; FISH, S.; PRAKASHAM, R. S. Overview on commercial production of xylitol, economic analysis and market trends. In: SILVA, S. S.; CHANDEL, A. K. (Eds) **D-xylitol: fermentative production, application and commercialization**. Heidelberg: Springer, 2012. p. 291-306.

RIBEIRO, A. A.; OLIVEIRA, D. F.; SAMPAIO, M. C. N.; CARNEIRO, M. A. S.; TAVARES, S. B. N.; SOUZA, N. L. A. et. al. Agentes microbiológicos em exames citopatológicos: estudo de prevalência. **Rev Bras. Anal Clin.**, v. 39, n. 3, p. 179-181, 2007.

ROBERTO, I. C.; MANCILHA, I. M.; SATO, S. Influence of kLa on bioconversion of rice straw hemicellulose hydrolysate to xylitol. **Bioprocess Engineering**, v. 21, p. 505-508, 1999.

ROBERTO, I.C.; SILVA, S. S.; FELIPE, M. G. A.; MANCILHA, I. M.; SATO, S. Bioconversion of Rice straw hemicelluloses hydrolysate for the production of xylitol: Effect of pH and nitrogen source. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 57-58, p. 339-347, 1996a

ROBERTO, I. C.; SATO, S.; MANCILHA, I. M. Effect of inoculum level on xylitol production from rice straw hemicelluloses hydrolysate by *Candida guilliermondii*. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 16, p. 348-350, 1996b.

RODRIGUES, Rita de Cássia Lacerda Brambilla. **Influência da Disponibilidade de O₂ no Processo Descontínuo de Obtenção de Xilitol em Hidrolisado de Bagaço de Cana.**

2005. 246 f. Tese. (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

SAMPAIO, F. C.; TORRE, P.; PASSOS, F. M. L.; PEREGO, P.; PASSOS, F. J. V.; CONVERTI, A. Xylose metabolism in *Debaryomyces hansenii* UFV-170. Effect of the specific oxygen uptake rate. **Biotechnol Prog**, v. 20, p. 1641-1650, 2004.

SANCHEZ, B.; BAUTISTA, J. Effects of furfural and 5-hydroxymethylfurfural on the fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and biomass production form *Candida guilliermondii*. **Enzyme Microbialand Technology**, v. 10, p. 315-319, 1988.

SANRÓMAN, M. A.; DOMINGUÉZ, H., NÚÑEZ, M. J.; LEMA, J. M. Xylitol: Um alcohol com futuro. **Afinidad**, v. 434, n. 48, p. 215-222, 1991.

SARROUH, B. F. **Estudo da produção biotecnológica de xilitol em reator de leito fluidizado utilizando bagaço de cana-de-açúcar e células imobilizadas: avaliação de parâmetros operacionais e viabilidade econômica**. 2009. 185f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

SHISEIDO CO LTD.(Japan). Noritoshi Maeda; Haruo Ogawa. **Skin care preparation for ameriorating chapped skin**. JP2002121108, 23 abr. 2002.

SILVA, C. J. S. M. **Planejamento e otimização de parâmetros no processo fermentativo de obtenção de xilitol empregando hidrolisado hemicelulósico de palha de arroz**. 1999. 116 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 1999.

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, D. D. V. **Efeito do ácido acético na bioconversão de xilose em xilitol por *Candidaguilliermondii* em hidrolisado de cana-de-açúcar**. 2001. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2001.

SILVA, S. S.; MANCILHA, I. M.; VANETTI, M. D.; BARBOSA, M. F. S. Use of Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate for Lactic Acid Production. In: EUROPEAN CONFERENCE BIOMASS FOR ENERGY AND INDUSTRY, 5, London: Elsevier, 1990. v.12, p. 1005-1009.

SILVA, Orlando de Oliveira. **Aproveitamento de bagaço de abacaxi (*Ananascomosus L. Merril*) para a produção biotecnológica de xilitol**. 2011. 143 f. Tese (Doctor Scientiae em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

SLININGER, P. J.; BOTHAST, R. J.; LADISCH, M. R.; OKOS, M. R. Optimum pH and Temperature Conditions for Xylose Fermentation by *Pichiastipitis*. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.35, p. 727-731, 1990.

TADA, K.; HORIUCHI, I.; KANNO, T.; KOBAYASHI, M. Microbial xylitol production from corn cobs using *Candida magnolia*. **J. Biosci. Bioeng.**, v. 98, n. 3, p. 228-230, 2004.

TALJA, R. A., ROOS, Y. H. Phase and state transition effects on dielectric, mechanical, and thermal properties of polyols. **Thermochemic Acta**, v.380, n.2,14, p.109-121, Dezembro 2001.

TAPIAINEN, T.; KONTIOKARI, T.; SAMMALKIVI, L.; IKÄHEINO, I.; KOSKELA, M.; UHARI, M. Effect of xylitol on growth of *Streptococcus pneumoniae* in the presence of fructose and sorbitol. **Antimicrob Agent Chemother**, v. 45, p.166-169, 2001.

TORTOLA, G. J.; FUNKE, B.R.; CASE, C. L. **Microbiologia**.8a ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

UHARI, M.; KONTIOKARI, T.; KOSKELA, M.; NIEMELA, M. Xylitol chewing gum in prevention of acute otitis media: double blind randomised trial. **Brit Med J**, v. 313, p. 1180-1184, 1996.

UHARI, M.; KONTIOKARI, T.; NIEMELA, M. A novel use of xylitol sugar in preventing acute otitis media. **Pediatrics**, v. 102, p. 879-884, 1998.

VANDESKA, E.; AMARTEY, S.; KUZMANOVA, S.; JEFFRIES, T. Effects of environmental conditions on production of xylitol by *Candida boidinii*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 11, p. 213-218, 1995.

VANDESKA, E.; KUSMANOVA, S.; AMARTEY, S.; JEFFRIES, T. W. Environmental Parameters Affecting Xylitol Production by *Candida boidinii*. In: European Congress on Biotechnology, 6, Florença, Itália, 13-17 jun. 1993.

VERNACCHIO, L.; VEZINA, R. M.; MITCHELL, A. A.; Tolerability of oral solution in Young children: implications for otitis media prophylaxis. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 71, p. 94, 2007.

WANG, Y. M.; VAN EYS, J. Nutritional significance of fructose and sugar alcohols. **Annual Review of Nutrition**, v. 1, p. 435-475, 1981.

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

YLIKAHRI, R. Metabolic and nutritional aspects of xylitol. **Advances in Food Research**, v. 25, p. 159-160, 1979.

YOSHITAKE, J.; OHIWA, H.; SHIMAMURA, M.; IMAI, T. Production of polyalcohol by a *Corynebacterium* species. Part 1. Production of pentitol from aldopentose. **Agric Biol Chem**, v. 35, p. 905-911, 1971.

ZABNER, J.; SEILER, M. P.; LASNPACH, J. L.; KARP, P. H.; KEARNEY, W. R.; LOOK, D. C.; SMITH, J. J.; WELSH, M. J. The osmolyte xylitol reduces the salt concentration of airway surface liquid and may enhance bacterial killing. **Proc Natl Acad Sci**. p. 11614-11619, 2000.