



MİKROBİYEL KSİLİTOL ÜRETİMİNDE HEMİSELÜLOZİK HİDROLİZATLARIN KULLANIMI

Kübra Eryaşar Örer, Seda Karasu Yalçın*

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş / *Received*: 10.10.2017; Kabul / *Accepted*: 02.12.2017; Online baskı / *Published online*: 12.01.2018

Eryaşar Örer, K., Karasu Yalçın, S. (2018). Mikrobiyel ksilitol üretiminde hemiselülozik hidrolizatların kullanımını. *GIDA* (2018) 43 (1): 151-162 doi: 10.15237/gida.342722

ÖZ

Ksilitol, sakkarozaya benzer tatlılık derecesi, düşük kalori ve glisemik indeks değerlerinin yanısıra antikariyojenik özelliği sayesinde gıda endüstrisinde kullanılan şeker alkollerinde yer almaktadır. Ksilitol üretimi, günümüzde oldukça yüksek maliyetler gerektiren kimyasal proseslerle sağlanmaktadır. Diğer taraftan, üretim maliyetlerini azaltma potansiyeli değerlendirildiğinde, son yıllarda yapılan çalışmalar mikrobiyel ksilitol üretimi üzerine odaklanmıştır. Mikrobiyel ksilitol üretimi çalışmalarında yaygın olarak mayalar kullanılmaktadır. Çalışmalarda fermantasyon ortamı olarak, çeşitli lignoselülozik materyallerden hazırlanan ve ksilitol üretimi için gerekli substrat olan ksilozu içeren hemiselülozik hidrolizatlar kullanılmaktadır. Bu derleme, ksilitol ve fermantasyon yolu ile üretimi, ksilitol üretiminde doğal fermantasyon ortamı olarak kullanılan hemiselülozik hidrolizatların hazırlığı ve bu konuda son yıllardaki gelişmeleri içermektedir.

Anahtar kelimeler: Ksilitol, lignoselülozik materyal, hemiselülozik hidrolizat, fermantasyon

UTILIZATION OF HEMICELLULOSIC HYDROLYSATES FOR MICROBIAL XYLITOL PRODUCTION

ABSTRACT

Xylitol is one of the sugar alcohols used in food and pharmaceuticals industries, with relative sweetness equivalent to sucrose, less calorie and glycemic index values, and also its anticariogenic properties. Today, it is industrially produced by chemical processes demanding considerable high costs. On the other hand, when its potential for reducing the costs is evaluated, studies in recent years are focused on microbial xylitol production. Yeasts are widely used in microbial xylitol production studies. In those studies, hemicellulosic hydrolysates prepared from various lignocellulosic materials and containing xylose necessary as substrate for the xylitol production are utilized as fermentation media. This review was focused on xylitol and its production by fermentation, preparation of hemicellulosic hydrolysates used as natural fermentation media in xylitol production and recent developments in this subject.

Keywords: Xylitol, lignocellulosic material, hemicellulosic hydrolysates, fermentation

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding author*:

✉ yalcin_s@ibu.edu.tr

© (+90) 374 254 1000 / 4833

☎ (+90) 374 253 4558

GİRİŞ

Ksilitol, sahip olduğu çeşitli olumlu özellikleri nedeniyle dünya çapında yoğun olarak talep gören bir şeker alkolüdür. Ülkemize ithalat yolu ile sağlanan ksilitol; endüstriyel olarak kimyasal yöntemlerin kullanıldığı proseslerle üretilmektedir. Ancak, kimyasal yöntemlerin gerektirdiği yüksek sıcaklık ve basınç değerlerinin sağlanması için yapılan enerji sarfiyatı ve üretimde hammadde olarak kullanılan saf ksilozun pahalı olması, ksilitol üretiminin oldukça maliyetli bir proses haline gelmesine yol açmaktadır. Bu nedenle, doğada bol miktarda bulunan ve ucuz substrat kaynakları olan çeşitli lignoselülozik materyallerden hazırlanan ve ksilitol üretimi için gerekli substrat olan ksiloz açısından zengin hemiselülozik hidrolizatların mikrobiyel ksilitol üretimlerinde doğal fermantasyon ortamı olarak kullanılması ile ilgili çalışmaların son yıllarda arttığı görülmektedir (Camargo vd., 2015). Ksilitol üretiminde mikroorganizmalar kullanıldığında çok daha düşük sıcaklıklarda çalışılma ve hemiselülozik hidrolizatlardaki ksilozun saflaştırılmadan substrat olarak kullanılma olanakları, üretim maliyetlerinin önemli ölçüde azalmasına katkı sağlamaktadır. Genel olarak, mayaların ksilitol üretimi potansiyellerinin daha yüksek olduğu belirtilen çalışmalarda, lignoselülozik materyal olarak oldukça fazla çeşitlilikteki gıda, tarım ve ormancılık endüstrisi artıklarının değerlendirildiği görülmektedir (Albuquerque vd., 2014).

Mikrobiyel ksilitol üretimi çalışmaları için fermantasyon ortamı hazırlığı sürecinde, ilk olarak lignoselülozik materyaller çoğunlukla seyreltik sülfürik asit çözeltisinin kullanıldığı bir hidrolizasyon işlemine maruz bırakılmaktadır. Elde edilen hemiselülozik hidrolizatların, hammadde kaynağı ve işlem parametrelerine göre farklılık gösteren miktarlarda ksiloz içerdikleri bilinmektedir (Ur Rehman vd., 2015). Ancak, hazırlık sürecini nispeten zorlaştıran aşama, hidrolizatlarda ksilozun yanısıra mikroorganizma gelişimini olumsuz yönde etkileyen furfural, hidroksimetil furfural (HMF), fenolik bileşikler ve asetik asit gibi birtakım inhibitör bileşenlerin ortaya çıkmasıdır. Dolayısıyla, elde edilen hemiselülozik hidrolizatların fermantasyon ortamı

olarak kullanılabilmesi için, öncelikle içerdiği inhibitör bileşenlerinden etkin bir şekilde arındırılması gerekmektedir. Bu amaçla, vakum evaporasyonu, iyon değiştirici reçine kullanımı, aşırı alkalileştirme veya pH ayarlama ve aktif kömür ile muamele işlemlerinden sıklıkla yararlanıldığı görülmektedir (Albuquerque vd., 2015).

KSİLİTOL VE BİYOTEKNOLOJİK YOLLA ÜRETİMİ

Ksilitol, ağırlıklı olarak gıda ve eczacılık endüstrilerinde alternatif bir tatlandırıcı olarak kullanılan beş karbonlu bir şeker alkolüdür (Ur Rehman vd., 2015). Emülsifiye edici, nem tutucu, kıvam arttırıcı ve tatlandırıcı olma fonksiyonları sayesinde, gıdalarda E967 kodlu katkı maddesi olarak kullanılan ksilitol, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 'genel olarak güvenilir kabul edilen (GRAS)' bileşenler sınıfına dahil edilmiştir (Grembecka, 2015; Zada vd., 2017). Sakkaroz ile aynı tatlılık derecesine sahip olmakla birlikte kalori değeri yaklaşık üçte bir oranında olan ksilitol, düşük kalorili ürünlerin üretiminde kullanılabilme potansiyeline sahiptir (Ur Rehman vd., 2015). Sağlıklı beslenmeye olan ilginin artması ile beraber toplumlar şekersiz ve düşük kalorili gıda ürünlerini tüketmeye yönelmiş, bu durum ksilitol talebinin artmasına yol açmıştır. Dünya genelinde, 2013 yılında yaklaşık 160 bin ton olduğu belirlenen ksilitol tüketiminin önümüzdeki yıllarda 240 bin tonlara; piyasadaki ekonomik değerinin ise 670 milyon dolardan 1 milyar dolara yükseleceği tahmin edilmektedir (Rao vd., 2016; Dasgupta vd., 2017). Çözünme sıcaklığının negatif olması sayesinde ağza alındığında ferahlık hissi sağladığından, ksilitol genel olarak sakız, şekerleme ve çikolata gibi ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır (Albuquerque vd., 2014; Mohamad vd., 2015). Üretilen ksilitolün oldukça büyük bir çoğunluğunun sakız endüstrisi tarafından kullanıldığı rapor edilmiştir. Glisemik indeks değeri sakkarozla göre oldukça düşük olan ksilitol, insülin bağımsız olarak metabolize edildiğinden, diyabet hastalarına yönelik ürünlerde kullanılabilecek alternatif bir tatlandırıcıdır (Jain ve Mulay, 2014; Grembecka, 2015). Ksilitolün antikariyojenik özellik gösterdiği ve bu nedenle, diş macunu, ağız çalkalama suyu gibi kişisel bakım

ürünlerinde kullanıldığı bilinmektedir (Rafiqul ve Mimi Sakinah, 2013; Ur Rehman vd., 2015).

Ticari olarak ilk büyük ölçekli ksilitol üretimine, 1975 yılında Finlandiya'da başladığı belirtilmektedir. Ksilitol üretimi kimyasal olarak; ticari ksilozun veya çeşitli lignoselülozik materyallerden elde edilen ve ardından saflaştırılan ksilozun, oldukça yüksek basınç (31-40 atm) ve sıcaklık (100-130°C) koşulları altında Raney nikel katalizörü eşliğinde ksilitole indirgenmesi ile gerçekleştirilmektedir (Albuquerque vd., 2014; Dasgupta vd., 2017). Kimyasal yolla ksilitol üretiminde, hammadde kaynağı olarak lignoselülozik materyallerden elde edilen ksiloz içeriği bakımından zengin hidrolizatların kullanılabilmesine yönelik çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Ancak, hem yüksek basınç ve sıcaklık koşullarının sağlanması için gerekli donanım ve enerji maliyetlerinin fazla olması hem de saflaştırma işlemlerinin oldukça fazla maliyet gerektirmesinden dolayı, kimyasal yöntemlerin kullanıldığı ksilitol üretiminin pahalı bir süreç olduğu bilinmektedir (Albuquerque vd., 2014; Dalli vd., 2017). Bununla beraber, ksilitol günümüzde halen kimyasal yöntemlerle üretilmektedir. Dünya genelindeki en büyük ksilitol üreticisi olan bir işletmenin, ksilitol üretiminde hammadde olarak, kağıt hamuru ve kağıt endüstrisi artıklarından elde ettikleri ksilozu kullandığı belirtilmektedir (Albuquerque vd., 2014).

Ksilitolün kimyasal yöntemlerle üretiminde karşılaşılan zorluklar, son yıllarda araştırmacıları üretim için alternatif proses arayışlarına yöneltmiş ve ksilitolün fermantasyon yolu ile (mikrobiyel) ve enzimatik olarak üretilebileceği iki farklı biyoteknolojik yaklaşım geliştirilmiştir. Ksilitol üretiminin yaygın olarak, lignoselülozik materyalin asit veya enzim aracılığı ile hidrolize edilmesi ve ksiloz kaynağı olarak elde edilen hemiselülozik hidrolizatların içerdiği inhibitör bileşenlerden arındırılması aşamalarından sonra fermantasyona tabi tutulmaları ile gerçekleştirildiği bilinmektedir (Rafiqul ve Mimi Sakinah, 2013). Kimyasal yöntemler ile kıyaslandığında, hidrolizattaki ksilozun saflaştırılmadan ksilitol üretiminde kullanılabilmesi ve üretimde kullanılan düşük

sıcaklıkların fazla enerji gerektirmemesi nedenleri ile üretim maliyetlerinin önemli ölçüde azaltılabildiği belirtilmektedir (Mohamad vd., 2015). Ksilitol üreticisi oldukları bilinen mikroorganizmalar arasında başlıca *Scheffersomyces (Pichia)*, *Debaryomyces* ve *Candida* cinslerine ait maya suşlarının olduğu bildirilmekte ve özellikle *Candida* cinsi mayaların daha yüksek verimlerde ksilitol ürettikleri rapor edilmektedir (Cheng vd., 2010). Gerçekleştirilen bazı çalışmalarda, *Candida tropicalis* türüne ait mutant veya rekombinant suşlar ile (Jeon vd., 2011; Guo vd., 2013), rekombinant *Saccharomyces cerevisiae* (Li vd., 2013) ve *Debaryomyces hansenii* (Pal vd., 2013) suşlarının ksilitol üretimlerinde kullanıldıkları rapor edilmiştir. Ayrıca, rekombinant *Corynebacterium glutamicum* ve *Escherichia coli* bakteri türlerinin ksilitol üretiminde kullanıldığı bilinmektedir (Kim vd., 2010; Su vd., 2015). Yapılan bir çalışmada, *Candida* cinsi 28 adet izolat arasında, *C. tropicalis* MVP 16 suşunun en yüksek verimde ksilitol ürettiği belirtilmiştir (Lourenço vd., 2014). Guamán Burneo vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise, *C. tropicalis* türüne ait bir suşun yanısıra, *Cyberlindnera galapagoensis* suşu kullanılarak en yüksek değerlerde ksilitol üretilebildiği bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada, *Cyberlindnera saturnus* suşunun en yüksek derişimde ksilitol ürettiği rapor edilmiştir (Kamat vd., 2013).

Ksilitol, mikroorganizmaların ksilozu fermente etmeleri sırasında açığa çıkan bir ara üründür. Mayaların ksilozdan ksilitol üretim metabolizmasının, indirgenme ve yükseltgenme basamaklarını içeren bir dizi reaksiyondan oluştuğu görülmektedir. Ksiloz, NADPH veya NADH bağımlı ksiloz redüktaz (KR) enzimi varlığında indirgenerek ksilitole dönüşmekte, ardından elde edilen ksilitol hücre dışına salınmakta veya ortamda NADP⁺ veya NAD⁺ bağımlı ksilitol dehidrogenaz (KDH) enziminin olması durumunda ksiluloza okside olmaktadır. Ksilozdan fermantasyon yolu ile ksilitol üretimini düzenleyen enzimler olan KR ve KDH enzimleri arasındaki oranın, KR yönünde fazla olması, hücre içerisinde ksilitol birikimini sağlamaktadır (Winkelhausen ve Kuzmanova, 1998; Mohamad vd., 2016).

LİGNOSELÜLOZİK KAYNAKLARIN KİLİTOL ÜRETİMİ AMACIYLA DEĞERLENDİRİLMESİ

Doğada bol miktarda bulunan, gıda, tarım ve ormancılık endüstrisi artışı olabildiği çeşitli lignoselülozik materyallerin ksilitol üretimi amacı ile değerlendirilebilecek ucuz birer substrat kaynağı olduğu bilinmektedir (Jönsson ve Martín, 2016). Lignoselülozik materyaller selüloz, hemiselüloz ve lignin birimlerinden oluşmaktadır. Selülozik kısım, birbirlerine β -1,4 glikozidik bağları ile bağlanmış D-glukoz birimlerinden meydana gelen, yarı kristal (düzenli) yapı taşıyan bir homopolisakkarittir. Lignoselülozik materyallerin yaklaşık olarak %34-50'sinin selülozdan oluştuğu belirtilmektedir. Lignoselülozik materyal-deki hemiselülozik kısım ise, genel olarak pentoz ve heksoz şekerlerden, üronik asit ve asetil yan gruplarından oluşan heteropolisakkarit bir yapıdadır. Mikrobiyel ksilitol üretimi için gerekli substrat olan ksilozun pentoz bir şeker olduğu ve hemiselülozik kısımda yer aldığı bilinmektedir. Hemiselüloz, sahip olduğu düzensiz yapısı ile doğrusal bir polimer olan selülozdan ayrılmaktadır. Lignoselülozik materyalin yaklaşık %19-35'ini oluşturan hemiselülozun kimyasal yapısı ve bileşimi, bulunduğu bitki ve ağaç türlerine göre farklılık gösterebilmektedir. Lignoselülozik materyallerdeki bir diğer önemli kısım, fenolik maddelerin ester bağları ile birbirlerine bağlandıkları aromatik polimer bir madde olan lignindir (Rafiqul ve Mimi Sakinah, 2013).

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde; mısır koçanı (Li vd., 2012; Misra vd., 2013; Wang vd., 2013a), şeker pancarı posası (Silva vd., 2015; Castañón Rodríguez vd., 2015), şeker pancarı sapı (Hernández Pérez vd., 2016), pirinç sapı (Deng vd., 2007), pirinç kavuzu (Rambo vd., 2013), pamuk tohumu kabuğu (Wang vd., 2013b), sebze artıkları (Zhang vd., 2012b), kaju fıstığı posası (Rocha vd., 2014; Albuquerque vd., 2015), üzüm posası (Salgado vd., 2012), bira ve şarap tortusu (Pérez Bibbins vd., 2015), kahve meyvesi kabuğu (Arrizon vd., 2012), muz kabuğu, maş fasulyesi, yer fıstığı ve yulaf kabukları (Ur Rehman vd., 2015), asma budama artıkları (Rivas vd., 2007) ve kestane kabuğu (Eryaşar ve Karasu Yalçın, 2016)

gibi farklı gıda ve tarım endüstrisi artıklarından elde edilen, ksiloz içerikleri yüksek hemiselülozik hidrolizatların ksilitol üretiminde substrat olarak kullanıldığı görülmektedir. Ayrıca, zeytin ağacı budama artıkları (Mateo vd., 2013) ile ökalıptus ağacı (Villarreal vd., 2006), huş ağacı (Miura vd., 2015) ve bambu ağacı (Miura vd., 2013) kabuklarını kapsayan ormancılık endüstrisi artıklarının hidrolizat hazırlığında hammadde olarak değerlendirildiği bilinmektedir.

Mikrobiyel ksilitol üretiminde fermantasyon ortamı olarak kullanılan hidrolizatların hazırlığında hedeflenen, ksiloz içeriklerinin mümkün olduğu kadar yüksek, mikroorganizma gelişimi üzerine olumsuz etki gösterebilen çeşitli inhibitör bileşenlerin ise en düşük seviyelerde olduğu hemiselülozik hidrolizatların elde edilebilmesidir (Rafiqul ve Mimi Sakinah, 2013). Ancak, çok yüksek derişimlerde ksiloz içeren hemiselülozik hidrolizatların ksilitol üretimde kullanıldığı bazı çalışmalarda, mikroorganizmaların ksiloz fermantasyonu metabolizmalarının olumsuz yönde etkilendiği bildirilmektedir ve bu durumun ksilozun yanı sıra, hemiselülozik hidrolizatlarda bulunan inhibitör bileşenlerin derişimlerinin de daha yüksek olması ile açıklanmaktadır (Li vd., 2012). Ayrıca, üretimde kullanılan farklı suşların ksilitol üretimi kapasitelerinin de farklı olması ve hemiselülozik hidrolizatların kimyasal bileşimlerinin değişkenlik göstermesi nedenleri ile, ksiloz içeriği yüksek olan fermantasyon ortamlarında her zaman en yüksek derişimlerde ksilitol üretimi yapılamadığı bildirilmektedir. Tüm bu nedenlerle, mikrobiyel ksilitol üretimi çalışmaları için, lignoselülozik materyallerden hemiselülozik hidrolizat hazırlığı aşamalarının uygun yöntemler kullanılarak optimum koşullar altında gerçekleştirilmesi ve hazırlanan fermantasyon ortamlarında ksilitol üretme kapasitesi yüksek suşların seçilmesi oldukça büyük önem taşımaktadır (Mussatto ve Roberto, 2008).

Hemiselülozik hidrolizat hazırlığının başlangıç noktası olarak, lignoselülozik materyallere hidrolizasyon işlemi uygulanarak, bu materyallerdeki hemiselülozik yapının açığa çıkarılması ve bu sayede ksiloz içeren bir hidrolizatın elde edilmesi

sağlanmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda, hidrolizasyon öncesinde lignoselülozik materyallere birtakım ön işlemlerin uygulanarak, hidrolizasyon etkinliğinin artırılmaya çalışıldığı belirtilmektedir. Bazı çalışmalarda ise, lignoselülozik materyaller doğrudan, belirlenen uygun hidrolizasyon yöntem ve parametreleri kullanılarak hidrolize edilmektedir. Lignoselülozik materyallere, genel olarak fizikokimyasal veya kimyasal yöntemlerin kullanıldığı ön işlemler uygulandığında, bu materyallerin yapısal bütünlüklerinin bozulduğu, ligninin ortamdan uzaklaştırıldığı, hemiselülozik yapının parçalanarak açığa çıkmasının kolaylaştırıldığı ve dolayısıyla ksiloz derişimlerinin artırılabilirdiği bildirilmektedir (Ur Rehman vd., 2015; Chen vd., 2017). Kimyasal yöntemlerden yararlanılan ön işlemlerde çeşitli alkali, amonyak ve asit çözeltilerinin, organik çözücülerin veya oksitleyici ajanların kullanıldığı rapor edilmektedir (Rao vd., 2016). Örneğin, ksilitol üretiminde fermantasyon ortamı olarak pirinç sapı hidrolizatının kullanıldığı bir çalışmada, materyalin amonyak çözeltisi ile muamele edilmesinin hidrolizatın ksiloz içeriğini bir miktar arttırmasının yanısıra inhibitör bileşenlerin de ortamdan uzaklaştırılmasına katkı sağladığı ve bu sayede hazırlanan hidrolizatın maya suşu tarafından fermente edilme kapasitesinin arttığı belirlenmiştir (Deng vd., 2007). Rocha vd., (2014) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, seyreltik asit çözeltisine belirli oranda ilave edilen kaju fıstığı posasının 121°C'de 15 dakika süresince bekletilmesi ile daha fazla miktarda hemiselülozik yapının açığa çıktığı bildirilmiştir. Ayrıca, hidrojen peroksit çözeltisinin, lignini yaklaşık %50 oranında uzaklaştırdığı ve hemiselülozun büyük bir miktarını parçaladığı; ozonun ise hemiselülozik yapıya fazla etki etmediği, ancak lignin miktarını azalttığı rapor edilmiştir. Lignoselülozik materyallere uygulanan ön işlemlerde, mikrodalga uygulaması, ekstrüderlerde muamele ve yüksek basınçlı buhar uygulamaları gibi fizikokimyasal yöntemlerin kullanıldığı bilinmekte ve genel olarak bu yöntemlerin materyallerdeki hemiselülozik yapının parçalanarak açığa çıkmasına katkı sağladıkları bildirilmektedir (Rao vd., 2016).

Literatürdeki çalışmaların büyük bir çoğunluğunda, hidrolizasyon işlemlerinde seyreltik sülfürik asit çözeltisinden yararlanılmaktadır. Seyreltik asit hidrolizasyonunun, genel olarak düşük derişimlerde asit çözeltileri kullanılarak, yüksek sıcaklık ve basınç koşullarında gerçekleştirildiği ve bu sayede, substrat kaynağı olarak hemiselülozik yapıdaki ksilozun açığa çıkarılmasının sağlandığı belirtilmektedir. Hidrolizat hazırlığında hammadde olarak değerlendirilen lignoselülozik materyalin cinsine, kullanılan asite ve derişimine, uygulanan sıcaklık ve süreye, ayrıca katı materyal ve çözelti oranına bağlı olarak, elde edilen hidrolizatlardaki ksiloz derişimlerinin değiştiği bildirilmektedir (Rafiqul ve Mimi Sakinah, 2013). Mısır koçanı hidrolizatı hazırlamak üzere materyalin 1:10 (w/v) oranında %1'lik sülfürik asit çözeltisi ile karıştırıldığı ve 121°C'de 60 dakika süresince hidrolize edildiği durumda 16.36 g/L ksilozun açığa çıktığı, hidrolizasyon işlemi belirlenen optimum koşullarda (%1'lik sülfürik asit çözeltisi, 1:8, 121°C, 30 dakika) gerçekleştirildiğinde ise 21.98 g/L ksiloz elde edildiği rapor edilmiştir (Misra vd., 2013). Zeytin ağacı budama artıkları, %2'lik sülfürik asit çözeltisi kullanılarak ve 120°C'de 90 dakika süresince hidrolize edildiğinde, hidrolizasyon işlemi için optimum koşulların sağlandığı ve bu durumda en yüksek 17.97 g/L ksiloz elde edildiği rapor edilmiştir (Mateo vd., 2014).

HEMİSELÜLOZİK HİDROLİZATLARIN İNHİBİTÖRLERDEN ARINDIRILMASI İÇİN UYGULANAN İŞLEMLER

Lignoselülozik materyallere uygulanan seyreltik asit hidrolizasyonu sırasında açığa çıkan, hidrolizatlardaki derişimleri kullanılan lignoselülozik materyale ve hidrolizasyon yöntemine bağlı olarak değişebilen furfural, HMF, asetik asit ve fenolik maddeler gibi çeşitli inhibitör bileşenlerin, hemiselülozik hidrolizatların fermantasyon ortamı olarak kullanıldığı mikrobiyel ksilitol üretimi çalışmalarında karşılaşılan en yaygın problem olduğu bilinmektedir (Gupta vd., 2017). Rafiqul vd., (2015) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, hemiselülozik hidrolizatlardaki çeşitli inhibitörlerin *C. tropicalis* IFO 0618 suşunda bulunan ve ksilitol üretiminde kritik bir önemi olan ksiloz redüktaz (KR) enzimini inhibe ettiği

rapor edilmiştir. Lignoselülozik materyallerin asit ile muamele edildiği durumlarda, hemiselülozun parçalanması ile elde edilen pentoz şekerler ve üronik asitten furfural (2-furaldehit) ve heksoz şekerlerden HMF açığa çıkmaktadır (Rao vd., 2016). Genel olarak, kimyasal hidrolizle selülozun çok az miktarda parçalanması nedeni ile hemiselülozik yapıda heksoz şekerler daha düşük miktarlarda bulunduğundan, furfural ile kıyaslandığında, elde edilen hidrolizatlarda HMF oluşumunun daha az olduğu bilinmektedir (Ur Rehman vd., 2015). Daha yüksek sıcaklık değerleri ile yüksek derişimdeki asitlerin kullanıldığı ve daha uzun süreli hidrolizasyon işlemlerinde, HMF ve furfural bileşenlerinden levulinik ve formik asitlerin oluştuğu bilinmektedir. Hemiselülozdaki asetil gruplarının yıkımı sonucu oluşan asetik asit ise hidrolizatlarda bulunabilen bir diğer inhibitör bileşendir. Ayrıca, lignin molekülünün yıkımı ile yaygın olarak, 4-hidroksibenzaldehit, vanilin, siringaldehit, *p*-kumarik asit ve ferulik asit gibi fenolik maddeler meydana gelmektedir (Jönsson ve Martín, 2016).

Hemiselülozik hidrolizatlardaki inhibitör bileşenlerin, fermantasyon ortamının pH'sı ve çözünmüş oksijen derişimi, ortamda bulunan diğer inhibitörler ve kullanılan mikroorganizmaların inhibitörlere karşı gösterdikleri direnç gibi parametrelere bağlı olarak, mikroorganizma gelişimini farklı seviyelerde etkiledikleri belirtilmektedir (Ur Rehman vd., 2015, Rao vd., 2016). Çeşitli çalışmalarda, hidrolizasyon sırasında açığa çıkan furfural ve HMF bileşenlerinin hücre bölünmesini engellediği ve *Scheffersomyces stipitis* ve *S. cerevisiae* gibi bazı mikroorganizmaların gelişimini inhibe eden başlıca bileşen olduğu bilinmektedir (Chandel vd., 2013). Fermantasyon ortamında 0.5-2 g/L aralığındaki derişimlerde furfural bulunduğu durumlarda mikroorganizma gelişiminin %25-99 oranında azaldığı bildirilmektedir (Ur Rehman vd., 2015). Diğer yandan, bazı mikroorganizmaların aerobik koşullar altında, furfural bileşenini okside ederek daha az toksik etki gösteren furoik asite dönüştürebildikleri rapor edilmiştir (Wannawilai vd., 2017). Fermantasyon sürecinde inhibitör etki gösteren bileşenlerden asetik asit ise, düşük pH değerlerinde yağda çözünerek plazma membra-

nına difüze olmakta, hücre içerisindeki nötral pH'larda ise iyonlarına ayrışarak sitoplazmada birirmektedir. Bu sırada açığa çıkan protonların hücre pH'sını düşürerek mikroorganizma aktivitelerini inhibe ettiği ve mikroorganizmaların ölümüne neden olduğu belirtilmektedir. Fermantasyon ortamında 1 g/L'ye kadar bulunan asetik asitin ksilitol üretimini teşvik ettiği, 3 g/L ve üzerindeki derişimlerin ise fermantasyonu olumsuz etkilediği bildirilmiştir. (Chandel vd., 2013). Ayrıca, lignoselülozik materyallerdeki ligninin parçalanması sonucu oluşan başlıca inhibitörlerden olan fenolik bileşikler, hücre membranının seçici geçirgenlik özelliğini kaybetmesine yol açarak mikroorganizma gelişimi ve ksilitol üretimini etkilemektedir. *Candida guilliermondii* suşu kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada, fermantasyon ortamının oldukça düşük miktarlarda (0.1 g/L) fenolik madde içermesi durumunda bile, ksilitol üretiminin olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (Chandel vd., 2013). Ksilitol üretiminde *Candida athensensis* suşunun kullanıldığı bir başka çalışmada ise; 1 g/L'den daha düşük derişimde fenolik madde içeren fermantasyon ortamlarında gerçekleştirilen üretimlerde olumsuz sonuçların alınmadığı belirtilmiştir (Zhang vd., 2012a).

Hemiselülozik hidrolizatlardaki inhibitör bileşenlerin ksilitol üretimine etkisinin mümkün olduğunca düşük seviyelerde tutulması için; hidrolizasyonun daha ılımlı koşullarda gerçekleştirilmesi, inhibitörlere karşı yüksek direnç gösterebilen mikroorganizmaların seçilmesi veya hidrolizatların içerdiği inhibitör bileşenlerden arındırılmasının (detoksifikasyon) ardından fermantasyon ortamı olarak değerlendirilmesi önerilmektedir (Ur Rehman vd., 2015). Yapılan bazı mikrobiyel ksilitol üretimi çalışmalarında ise; fermantasyon ortamı olarak inhibitör bileşenlerden arındırılmamış hemiselülozik hidrolizatlardan yararlandığı belirtilmiştir (Ping vd., 2013). Ancak, oldukça yaygın bir şekilde, çeşitli fiziksel, kimyasal veya biyolojik yöntemler ile detoksifiye edilen hidrolizatların fermantasyon ortamı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Hemiselülozik hidrolizatlara uygulanacak detoksifikasyon yöntemi, fermantasyonda kullanılan mikroorganizma türüne ve hidrolizatın kimyasal bileşimine bağlı olarak

değişkenlik gösterebildiğinden, her çalışma için uygun bir yöntem belirlenmelidir. Uygulanan işlemlerin ksilitol üretim maliyetini arttırdığı göz önüne alındığında, bu aşamada ucuz ve etkili yöntemlerin kullanılması oldukça büyük bir önem taşımaktadır (Ur Rehman vd., 2015, Vallejos vd.,

2016). Çizelge 1’de, çeşitli çalışmalarda kullanılan hemiselülozik kaynaklar, hidrolizasyon ve detoksifikasyon yöntemleri ile elde edilen hidrolizattaki ksiloz miktarları verilmiştir.

Çizelge 1. Hemiselülozik hidrolizatlar kullanılarak mikrobiyel ksilitol üretiminin gerçekleştirildiği çeşitli çalışmalara ait bilgiler

Mikroorganizma	Substrat kaynağı	Hidrolizasyon yöntemi	Detoksifikasyon yöntemi	Ksiloz derişimi (g/L)	Kaynak
<i>C. guilliermondii</i>	Kavak ağacı	Seyreltik H ₂ SO ₄ (%1.75, 120°C, 2 sa)	Vakum evaporasyonu (65°C) ve organik çözücü ekstraksiyonu (toluen ile)	102.4	Dalli vd. 2017
<i>C. magnoliae</i>	Huş ağacı	Seyreltik H ₂ SO ₄ (%3, 120°C, 1 sa, 1:4)	Aktif kömür ile muamele (15 g/L, 160 vuru/dak, 30°C, 1 sa) ve anyon değiştirici reçine ile muamele (80 g/L)	37.6	Miura vd., 2015
<i>C. tropicalis</i>	Şekerpancarı posası	Seyreltik H ₂ SO ₄ (100 mg/g, 121°C, 20 dak, 1:10)	pH ayarlama ve aktif kömür ile muamele (%2.5 w/v, 200 rpm, 30°C, 1 sa)	49.7	Guáman-Burneo vd., 2015
<i>C. magnoliae</i>	Bambu ağacı	Seyreltik H ₂ SO ₄ (%3, 121°C, 1 sa, 1:10)	Aktif kömür ile muamele (20 g/L, 160 vuru/dak, 30°C, 24 sa)	19.4	Miura vd., 2013
<i>C. tropicalis</i>	Mısır koçanı	Seyreltik H ₂ SO ₄ (%1, 121°C, 40 dak, 1:10)	pH ayarlama ve aktif kömür ile muamele (1:40 w/v, 200 rpm, 30°C, 1 sa)	31.25 ^a 160 ^b	Li vd., 2012
<i>D. hansenii</i>	Üzüm posası	Seyreltik H ₂ SO ₄ (%3.3, 130°C, 15 dak, 1:8)	Aktif kömür ile muamele (1:10 w/v, oda sıcaklığında, 1 sa)	7.8 ^a 50.1 ^b	Salgado vd., 2012
<i>C. athbensensis</i>	Sebze artıkları	25°C’de suda 1 gece ve etanol/seyreltik H ₂ SO ₄ karışımında bekletme (65°C, 4 sa)	pH ayarlama ve aktif kömür ile muamele (%2 w/v, 200 rpm, 30°C, 1 sa)	123.42	Zhang vd., 2012b
<i>D. hansenii</i>	Asma budama artıkları	Seyreltik H ₂ SO ₄ (30 g/kg, 130°C, 15 dak, 1:8)	Aktif kömür ile muamele (20 g/g, oda sıcaklığında, 1 sa)	14.6 ^a 57.3 ^b	Rivas vd., 2007

^a hidrolizat konsantre edilmeden önce elde edilen ksiloz derişimi

^b hidrolizat konsantre edildikten sonra elde edilen ksiloz derişimi

Hemiselülozik hidrolizatların inhibitörlerden arındırılmasında fiziksel yöntemlerden olan vakum evaporasyonu kullanıldığında asetik asit, furfural, HMF ve vanilin gibi uçucu inhibitör bileşenlerin oldukça büyük bir çoğunluğunun uzaklaştırılabildiği bildirilmiştir. Ancak, bu yöntemin uçucu olmayan inhibitörlerin derişimini arttırdığı ve hidrolizat hacmini önemli ölçüde azalttığı bilinmektedir. Aşırı alkalileştirme veya pH ayarlama, organik çözücü ekstraksiyonu, iyon değiştirici reçine kullanımı ve aktif kömür ile muamele uygulamaları ise detoksifikasyonda kullanılan kimyasal yöntemlerdendir. Hidrolizatların içerdiği fenolik madde, keton, furfural ve HMF inhibitörlerinden arındırılması amacıyla, genel olarak kalsiyum hidroksit ile sülfürik asit çözeltilerinin bir arada kullanıldığı pH ayarlama yöntemi sıklıkla uygulanan düşük maliyetli yöntemlerdendir (Mohamad vd., 2015). Detoksifikasyon amacıyla kullanılan aktif kömür ile muamele uygulaması ise, serbest yağ asitleri, n-hekzan, pigmentler ve diğer inhibitör bileşenlerin uzaklaştırılmasını sağlayan etkili ve ekonomik bir yöntem olarak bilinmektedir. Aktif kömür ile muamele uygulamasının etkinliğinin pH, sıcaklık, temas süresi ve hidrolizattaki aktif kömür oranı (w/v) gibi farklı proses parametrelerine bağlı olarak değiştigi belirtilmektedir. Düşük pH değerlerinde gerçekleştirilen uygulamalar hidrolizatlarda bulunan iyonlaşmamış yapıdaki fenolik maddelerin, yüksek pH değerleri ise organik bileşiklerin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Hidrolizatların arıtılması işlemi, aktif kömürün hidrolizat ile temas süresinin arttırılmasından olumlu yönde etkilenmektedir. Ayrıca, inhibitör bileşenlerin aktif kömür tarafından tutulmasını hızlandırması nedeni ile, genellikle bu işlemin yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Ur Rehman vd., 2015). Hidrolizattaki aktif kömür oranı (0.1-0.3 g/g), uygulama süresi (10-70 dak) ve sıcaklığı (30-80°C) olmak üzere farklı parametrelerin mısır koçanı hidrolizatının detoksifikasyonu üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada optimum değerler sırası ile 0.2 g/g, 40 dakika ve 80°C olarak rapor edilmiştir (Wang vd., 2013a). Mısır koçanı hidrolizatı ile ilgili yapılan diğer bir çalışmada ise, pH ayarlama ve aktif kömür uygulamaları birlikte kullanılmış ve işlemler sonucunda furfural

bileşeninin tamamının, fenolik maddelerin ve asetik asitin ise oldukça büyük bir çoğunluğunun ortamdaki uzaklaştırılabildiği bildirilmiştir (Misra vd., 2013). Zeytin ağacı budama artıkları kullanılarak hazırlanan hidrolizat, belirlenen optimum koşullar altında aktif kömür uygulamasına tabi tutulduğunda asetik asitin %46'sı, fenolik maddelerin %81'i, furfural ve HMF'nin ise tamamına yakınının hidrolizattan uzaklaştırıldığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada, pH ayarlama ve organik çözücü ekstraksiyonu yöntemleri uygulandığında, hidrolizatın içerdiği inhibitör derişimlerinin daha yüksek olduğu bildirilmiş ve bu sebeple elde edilen hidrolizatın arıtılmasında aktif kömür uygulaması önerilmiştir (Mateo vd., 2013). Hemiselülozik hidrolizatların inhibitörlerden arındırılması işlemlerinde iyon değiştirici reçinelerden de yararlanıldığı, özellikle anyon değiştirici reçineler kullanıldığında hidrolizatlardaki furfural, asetik asit, HMF ve fenolik maddelerin, ayrıca aldehit ve alifatik asitlerin önemli ölçüde uzaklaştırıldığı belirtilmiştir (Ur Rehman vd., 2015).

Hidrolizatların arıtılmasında, mikroorganizmalar veya enzimlerin kullanıldığı biyolojik yöntemlerden yararlanan çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır. Hidrolizattaki inhibitör bileşenlerin bazı mikroorganizmalar tarafından metabolize edilmesi ile gerçekleştirilen biyolojik detoksifikasyon yöntemlerinin, enerji gereksinimlerinin daha düşük olması, istenmeyen bazı reaksiyon ürünlerinin açığa çıkmaması ve hidrolizatta hacim kaybı gerçekleşmemesi gibi avantajlara sahip olduğu belirtilmektedir. Mısır sapı hidrolizatının fermantasyon ortamı olarak değerlendirildiği bir çalışmada, hidrolizattaki furfural, HMF ve diğer inhibitörlerin ortamdaki etkili bir şekilde uzaklaştırılmasında *Coniochaeta ligniaria* suşunun kullanıldığı bildirilmiştir. Hidrolizatların enzimler kullanılarak arındırılmasında ise genellikle lakkaz ve peroksidaz enzimlerinden yararlanılmaktadır. Ayrıca, son yıllarda hidrolizatların detoksifikasyonu ile ilgili olarak gerçekleştirilen bazı çalışmalarda, nanofiltrasyon, vakum membran distilasyonu ve elektrokimyasal yöntemlerin kullanıldığı bildirilmektedir (Rao vd., 2016).

SONUÇ

Kimyasal yöntemlerle yapılan ksilitol üretimi ile karşılaştırıldığında, fermantasyon ortamı olarak hemiselülozik hidrolizatların kullanıldığı mikrobiyel ksilitol üretimi çalışmalarının genel olarak daha az maliyet gerektirdikleri belirtilmektedir. Ayrıca, katma değeri yüksek bir ürün olan ksilitolün üretiminde substrat kaynağı olarak, doğada çok fazla miktarda bulunan lignoselülozik artıklardan yararlanılması sayesinde, bu artıkların neden olduğu çevre kirliliğinin azaltılmasına katkı sağlanmaktadır. Ancak, mikroorganizmaların ksilitol üretebildikleri uygun koşulların belirlenmesi ve sağlanması amacıyla, fermantasyon ortamı hazırlık aşamalarının farklı bileşimlerdeki lignoselülozik artıklar için ayrı ayrı optimize edilmesi gerekmektedir. Mikrobiyel ksilitol üretiminin, kimyasal üretimin yerini tamamen alabilmesi için; inhibitörlere dirençli yeni suşların geliştirilmesine veya kolay uygulanabilen detoksifikasyon yöntemlerinin kullanımına yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir.

KAYNAKLAR

Albuquerque, T.L.d., Silva, I.J.d., Macedo, G.R.d., Rocha, M.V.P. (2014). Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: a review. *Process Biochem*, 49(11): 1779-1789.

Albuquerque, T.L.d., Gomes, S.D.L., Marques, J.E., Silva, I.J.d., Rocha, M.V.P. (2015). Xylitol production from cashew apple bagasse by *Kluyveromyces marxianus* CCA510. *Catal Today*, 255: 33-40.

Arrizon, J., Mateos, J.C., Sandoval, G., Aguilar, B., Solis, J., Aguilar, M.G. (2012). Bioethanol and xylitol production from different lignocellulosic hydrolysates by sequential fermentation. *J Food Process Eng*, 35(3): 437-454.

Camargo, D., Sene, L., Variz, D.I.L.S., Felipe, M.G.A. (2015). Xylitol bioproduction in hemicellulosic hydrolysate obtained from sorghum forage biomass. *Appl Biochem Biotechnol*, 175(8): 3628-3642.

Castañón Rodríguez, J.F., Portilla Arias, J.A., Aguilar Uscanga, B.R., Aguilar Uscanga MG (2015). Effects of oxygen and nutrients on xylitol

and ethanol production in sugarcane bagasse hydrolysates. *Food Sci Biotechnol*, 24(4): 1381-1389.

Chandel, A.K., Silva, S.S.d., Singh, O.V. (2013). Detoxification of lignocellulosic hydrolysates: biochemical and metabolic engineering toward white biotechnology. *BioEnergy Res*, 6(1): 388-401.

Chen, H., Liu, J., Chang, X., Chen, D., Xue, Y., Liu, P., Lin, H., Han, S. (2017). A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Process Technol*, 160: 196-206.

Cheng, K.K., Ling, H.Z., Zhang, J.A., Ping, W.X., Huang, W., Ge, J.P., Xu, J.M. (2010). Strain isolation and study on process parameters for xylose-to-xylitol bioconversion. *Biotechnol Biotech Eq*, 24(1): 1606-1611.

Dalli, S.S., Patel, M., Rakshit, S.K. (2017). Development of evaluation of poplar hemicellulosic prehydrolysate upstream processes for the enhanced fermentative production of xylitol. *Biomass Bioenergy*, 105: 402-410.

Dasgupta, D., Bandhu, S., Adhikari, D.K., Ghosh, D. (2017). Challenges and prospects of xylitol production with whole cell bio-catalysis: a review. *Microbiol Res*, 197: 9-21.

Deng, L., Wang, Y., Zhang, Y., Ma, R. (2007). The enhancement of ammonia pretreatment on the fermentation of rice straw hydrolysate to xylitol. *J Food Biochem*, 31(2): 195-205.

Eryaşar, K., Karasu Yalçın, S. (2016). Evaluation of some lignocellulosic byproducts of food industry for microbial xylitol production by *Candida tropicalis*. *3 Biotech*, 6: 202.

Grembecka, M. (2015). Sugar alcohols-their role in modern world of sweeteners: a review. *Eur Food Res Technol*, 241(1): 1-14.

Guamán Burneo, M.C., Dussán, K.J., Cadete, R.M., Cheab, M.A.M., Portero, P., Carvajal Barriga, E.J., Silva, S.S., Rosa, C.A. (2015). Xylitol production by yeasts isolated from rotting wood in the Galapagos Islands, Ecuador, and description of *Cyberlindnera galapagoensis* f.a., sp. nov. *A van Leeuw J Microb*, 108(4): 919-931.

Guo, X., Zhang, R., Li, Z., Dai, D., Li, C., Zhou, X. (2013). A novel pathway construction in

- Candida tropicalis* for direct xylitol conversion from corncob xylan. *Bioresource Technol*, 128: 547-552.
- Gupta, R., Gautam, S., Shukla, R., Kuhad, R.C. (2017). Study of charcoal detoxification of acid hydrolysate from corncob and its fermentation to xylitol. *J Environ Chem Eng*, 5(5): 4573-4582.
- Hernández Pérez, A.F., Costa, I.A.L., Silva, D.D.V., Dussán, K.J., Villela, T.R., Canettieri, E.V., Carvalho, J.A., Neto, T.G.S., Felipe, M.G.A. (2016). Biochemical conversion of sugarcane straw hemicellulosic hydrolyzate supplemented with co-substrates for xylitol production. *Bioresource Technol*, 200: 1085-1088.
- Jain, H., Mulay, S. (2014). A review on different modes and methods for yielding a pentose sugar: xylitol. *Int J Food Sci Nutr*, 65(2): 135-143.
- Jeon, Y.J., Shin, H.S., Rogers, P.L. (2011). Xylitol production from a mutant strain of *Candida tropicalis*. *Lett Appl Microbiol*, 53(1): 106-113.
- Jönsson, L.J., Martín, C. (2016). Pretreatment of lignocellulose: formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. *Bioresource Technol*, 199: 103-112.
- Kamat, S., Gaikwad, S., Ravi Kumar, A., Gade, W.N. (2013). Xylitol production by *Cyberlindnera (Williopsis) saturnus*, a tropical mangrove yeast from xylose and corn cob hydrolysate. *J Appl Microbiol*, 115(6): 1357-1367.
- Kim, S.H., Yun, J.Y., Kim, S.G., Seo, J.H., Park, J.B. (2010). Production of xylitol from D-xylose and glucose with recombinant *Corynebacterium glutamicum*. *Enzyme Microb Technol*, 46(5): 366-371.
- Li, M., Meng, X., Diao, E., Du, F. (2012). Xylitol production by *Candida tropicalis* from corn cob hemicellulose hydrolysate in a two-stage fed-batch fermentation process. *J Chem Technol Biot*, 87(3): 387-392.
- Li, Z., Qu, H., Li, C., Zhou, X. (2013). Direct and efficient xylitol production from xylan by *Saccharomyces cerevisiae* through transcriptional level and fermentation processing optimizations. *Bioresource Technol*, 149: 413-419.
- Lourenço, M.V.M., Dini Andreote, F., Aguilar Vildoso, C.I., Basso, L.C. (2014). Biotechnological potential of *Candida* spp. for the bioconversion of D-xylose to xylitol. *Afr J Microbiol Res*, 8(20): 2030-2036.
- Mateo, S., Roberto, I.C., Sánchez, S., Moya, A.J. (2013). Detoxification of hemicellulosic hydrolyzate from olive tree pruning residue. *Ind Crop Prod*, 49: 196-203.
- Mateo, S., Puentes, J.G., Roberto, I.C., Sánchez, S., Moya, A.J. (2014). Optimization of acid hydrolysis of olive tree pruning residue. Fermentation with *Candida guilliermondii*. *Biomass Bioenerg*, 69: 39-46.
- Misra, S., Raghuvanshi, S., Saxena, R.K. (2013). Evaluation of corncob hemicellulosic hydrolysate for xylitol production by adapted strain of *Candida tropicalis*. *Carbohydr Polym*, 92(2): 1596-1601.
- Miura, M., Watanabe, I., Shimotori, Y., Aoyama, M., Kojima, Y., Kato, Y. (2013). Microbial conversion of bamboo hemicellulose hydrolyzate to xylitol. *Wood Sci Technol*, 47: 515-522.
- Miura, M., Shimotori, Y., Nakatani, H., Harada, A., Aoyama, M. (2015). Bioconversion of birch wood hemicellulose hydrolyzate to xylitol. *Appl Biochem Biotech*, 176: 947-955.
- Mohamad, N.L., Mustapa Kamal, S.M., Mokhtar, M.N. (2015). Xylitol biological production: a review of recent studies. *Food Rev Int*, 31(1): 74-89.
- Mohamad, N.L., Mustapa Kamal, S.M., Mokhtar, M.N., Husain S.A., Abdullah, N. (2016). Dynamic mathematical modelling of reaction kinetics for xylitol fermentation using *Candida tropicalis*. *Biochem Eng J*, 111: 10-17.
- Mussatto, S.I., Roberto, I.C. (2008). Establishment of the optimum initial xylose concentration and nutritional supplementation of brewer's spent grain hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Process Biochem*, 43(5): 540-546.
- Pal, S., Choudhary, V., Kumar, A., Biswas, D., Mondal, A.K., Sahoo, D.K. (2013). Studies on xylitol production by metabolic pathway engineered *Debaryomyces hansenii*. *Bioresource Technol*, 147: 449-455.

- Pérez Bibbins, B., Torrado Agrasar, A., Pérez Rodríguez, N., Aguilar Uscanga, M.G., Domínguez, J.M. (2015). Evaluation of the liquid, solid and total fractions of beer, cider and wine lees as economic nutrient for xylitol production. *J Chem Technol Biot*, 90(6): 1027-1039.
- Ping, Y., Ling, H.Z., Song, G., Ge, J.P. (2013). Xylitol production from non-detoxified corncob hemicellulose acid hydrolysate by *Candida tropicalis*. *Biochem Eng J*, 75: 86-91.
- Rafiqul, I.S.M., Mimi Sakinah, A.M. (2013). Processes for the production of xylitol- a review. *Food Rev Int*, 29(2): 127-156.
- Rafiqul, I.S.M., Mimi Sakinah, A.M., Zularisam, A.W. (2015). Inhibition by toxic compounds in the hemicellulosic hydrolysates on the activity of xylose reductase from *Candida tropicalis*. *Biotechnol Lett*, 37: 191-196.
- Rao, L.V., Goli, J.K., Gentela, J., Koti, S. (2016). Bioconversion of lignocellulosic biomass to xylitol: an overview. *Bioresource Technol*, 213:299-310.
- Rambo, M.K.D., Bevilaqua, D.B., Brenner, C.G.B., Martins, A.F., Mario, D.N., Alves, S.H., Mallmann, C.A. (2013). Xylitol from rice husks by acid hydrolysis and *Candida* yeast fermentation. *Quim Nova*, 36(5): 634-639.
- Rivas, B., Torrado, A., Rivas, S., Moldes, A.B., Domínguez, J.M. (2007). Simultaneous lactic acid and xylitol production from vine trimming wastes. *J Sci Food Agr*, 87(8): 1603-1612.
- Rocha, M.V.P., Rodrigues, T.H.S., Albuquerque, T.L.d., Gonçalves, L.R.B., Macedo, G.R.d. (2014). Evaluation of dilute acid pretreatment on cashew apple bagasse for ethanol and xylitol production. *Chem Eng J*, 243: 234-243.
- Salgado, J.M., Rodríguez, N., Cortés, S., Domínguez, J.M. (2012). Effect of nutrient supplementation of crude or detoxified concentrated distilled grape marc hemicellulosic hydrolysates on the xylitol production by *Debaryomyces hansenii*. *Prep Biochem Biotech*, 42(1): 1-14.
- Silva, D.D.V., Arruda, P.V.d., Vicente, F.M.C.F., Sene, L., Silva, S.S.d., Felipe, M.G.A. (2015). Evaluation of fermentative potential of *Kluyveromyces marxianus* ATCC 36907 in cellulosic and hemicellulosic sugarcane bagasse hydrolysates on xylitol and ethanol production. *Ann Microbiol*, 65: 687-694.
- Su, B., Wu, M., Zhang, Z., Lin, J., Yang, L. (2015). Efficient production of xylitol from hemicellulosic hydrolysate using engineered *Escherichia coli*. *Metab Eng*, 31: 112-122.
- Ur Rehman, S., Mushtaq, Z., Zahoor, T., Jamil, A., Murtaza, M.A. (2015). Xylitol; a review on bio-production, application, health benefits and related safety issues. *Crit Rev Food Sci*, 55(11): 1514-1528.
- Vallejos, M.E., Chade, M., Mereles, E.B., Bengoechea, D.I., Brizuela, J.G., Felissia, F.E., Area, M.C. (2016). Strategies of detoxification and fermentation for biotechnological production of xylitol from sugarcane bagasse. *Ind Crop Prod*, 91: 161-169.
- Villarreal, M.L.M., Prata, A.M.R., Felipe, M.G.A., Almeida e Silva, J.B. (2006). Detoxification procedures of eucalyptus hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Enzyme Microb Tech*, 40(1): 17-24.
- Wang, L., Fan, X., Tang, P., Yuan, Q. (2013a). Xylitol fermentation using hemicellulose hydrolysate prepared by acid pre-impregnated steam explosion of corncob. *J Chem Technol Biot*, 88(11): 2067-2074.
- Wang, L., Wu, D., Tang, P., Yuan, Q. (2013b). Effect of organic acids found in cottonseed hull hydrolysate on the xylitol fermentation by *Candida tropicalis*. *Bioproc Biosyst Eng*, 36(8): 1053-1061.
- Wannawilai, S., Chisti, Y., Sirisansaneeyakul, S. (2017). A model of furfural-inhibited growth and xylitol production by *Candida magnoliae* TISTR 5663. *Food Bioprod Process*, 105: 129-140.
- Winkelhausen, E., Kuzmanova, S. (1998). Microbial conversion of D-xylose to xylitol. *J Ferment Bioeng*, 86(1): 1-14.
- Zada, B., Chen, M., Chen, C., Yan, L., Xu, Q., Li, W., Guo, Q., Fu, Y. (2017). Recent advances in catalytic production of sugar alcohols and their applications. *Sci China Chem*, 60(7): 853-869.

Zhang, J., Geng, A., Yao, C., Lu, Y., Li, Q. (2012a). Effects of lignin-derived phenolic compounds on xylitol production and key enzyme activities by a xylose utilizing yeast *Candida atbensensis* SB18. *Bioresource Technol*, 121: 369-378.

Zhang, J., Geng, A., Yao, C., Lu, Y., Li, Q. (2012b). Xylitol production from D-xylose and horticultural waste hemicellulosic hydrolysate by a new isolate of *Candida atbensensis* SB18. *Bioresource Technol*, 105: 134-141.