

# BIOCONVERSIÓN DE XILOSA A XILITOL POR *Candida guilliermondii* EMPLEANDO CASCARILLA DE ARROZ (*Oriza sativa*).

## BIOCONVERSION OF XYLITOL TO XYLOSE BY *Candida guilliermondii* USING RICE (*Oriza sativa*) HUSK.

Irina C. Herazo<sup>1</sup>, Danella Ruiz<sup>1</sup> y Guillermo S. Arrazola<sup>1</sup>

### RESUMEN

El objetivo fue la obtención de xilitol a partir del hidrolizado de cascarilla de arroz por fermentación batch con cepa nativa *Candida guilliermondii*, aislada del fruto de corozo chiquito (*Bactris guineensis*). El estudio se dividió en dos partes: Obtención del hidrolizado hemicelulósico por vía ácida a partir de cascarilla, evaluándose los efectos de concentración de ácido sulfúrico (1, 2 y 3% p/v), el tiempo de hidrólisis (10, 20 y 30 minutos) y el diámetro de cascarilla (800 -1.600  $\mu\text{m}$ , 800 – 500  $\mu\text{m}$  y 500 – 250  $\mu\text{m}$ ) en la producción de azúcares reductores. En ésta parte se determinó que el hidrolizado obtenido a un tiempo de 30 minutos, 2% de ácido sulfúrico y diámetro de partícula de cascarilla de 800 – 500  $\mu\text{m}$  presentó mayor contenido de azúcares reductores (32,5 g L<sup>-1</sup>) y de xilosa (9,9 g L<sup>-1</sup>). En la segunda parte se obtuvo xilitol empleando el hidrolizado seleccionado y realizando fermentación a temperatura de 30 °C, pH del medio de 5,8, agitación de 120 rpm, concentración de xilosa de 27,5 g L<sup>-1</sup> y de células de 3 g L<sup>-1</sup>. La producción de xilitol se evaluó por cromatografía de capa fina (TLC) y líquida de alta resolución (HPLC). Los resultados mostraron que el tiempo de fermentación tiene un efecto significativo ( $Pr < 0,05$ ) en la producción de xilitol debido a que a mayor tiempo de fermentación se incrementa la concentración de xilitol en el medio. La producción de xilitol fue baja en las condiciones empleadas, siendo el rendimiento máximo de xilitol de 2,6 g L<sup>-1</sup> después de 120 h de fermentación.

**Palabras claves:** Hidrólisis, azúcares reductores, xilosa, ácido sulfúrico, diámetro de partículas.

### ABSTRACT

The objective was to obtain xylitol from hydrolyzed rice husk by fermentation batch with native stock of *Candida guilliermondii* isolated from corozo fruit (*Bactris guineensis*). The study was fractionated in two parts: Obtaining of hemicelulosic hydrolyzed by acid way from the husk, previously tried, where the effects of sulphuric acid concentration (1, 2 and 3% (p/v), the time of hydrolysis (10, 20 and 30 minutes) and the husk diameter (1.600 - 800  $\mu\text{m}$ , 800 – 500  $\mu\text{m}$  and 500 – 250  $\mu\text{m}$ ) reducing sugars production were evaluated. It was determined that hydrolyzed obtained at 30 minutes, 2% of sulphuric acid and 800 – 500  $\mu\text{m}$  diameter husk particle produced majors reducing sugars content (32,5 g L<sup>-1</sup>) and of xylose (9,9 g L<sup>-1</sup>). The second part consisted of obtaining xylitol using the selected hydrolyzed fermenting under the following parameters: temperature 30 °C, environment pH 5,8, shaking at 120 rpm, initial xylose concentration of 27,5 g L<sup>-1</sup> and cell concentration of 3 g L<sup>-1</sup>. Xylitol production was evaluated using Light Chromatography (TLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). According to the statistic analyses the time of fermentation had a significant effect ( $Pr < 0.05$ ) on xylitol

---

<sup>1</sup> Universidad de Córdoba, Departamento de Ingeniería de Alimentos

production observing that when increasing fermentation time xylitol concentration on the hydrolyzed increases as well. Xylitol production was low, reaching the highest peak (2,6 g L<sup>-1</sup>) after 120 hours fermentation.

**Key words:** hydrolysis, reductive sugars, xylose, sulfuric acid, diameter of particle.

## INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente se considera a la cascarilla de arroz como un desecho que contamina el medio ambiente; sin embargo, este subproducto posee una composición aproximada máxima de 43,8% de celulosa, 21,9% de pentosanas y 46,9 % de lignina (Yufera 2002). Aprovechando estas características se obtiene por hidrólisis ácida un caldo rico en xilosa, el cual aplicando técnicas de fermentación es utilizado para la obtención de xilitol (Silva et al. 2001a).

El xilitol es un alcohol pentahidroxilado, de gran importancia comercial por su poder edulcorante, posee propiedades físico-químicas que facilitan su uso en la industria alimenticia, farmacéutica y odontológica (Silva et al. 2001b). Presenta propiedades anticariogénicas por el hecho de no ser utilizado por los microorganismos de la flora bucal, en particular por la bacteria *Streptococcus mutans*, lo que evita la formación de ácidos que atacan el esmalte dental (Fennema 1993). También se utiliza en la preparación de alimentos para el tratamiento de personas con diabetes, desordenes en el metabolismo de lípidos, lesiones renales y parenterales (Mäkinen 2000).

Con la obtención y producción de xilitol a partir de la cascarilla, mediante el método biotecnológico utilizando la levadura *Candida guilliermondii*, se contribuye a solucionar problemas tales como la contaminación y pérdidas económicas que se están generando en el país debido a la poca utilización de este desecho industrial, con lo cual también se favorece el desarrollo sostenible de la región, racionalidad industrial en el manejo de subproductos y en general se aporta al conocimiento y la tecnología, para el bienestar social de todos los sectores

involucrados en los procesos agrario-alimentarios. La investigación se realiza con el propósito de presentar una nueva alternativa a la industria arrocera del país para el aprovechamiento de la cascarilla de arroz en obtención de productos de valor agregado, mediante la obtención de xilitol a partir del hidrolizado de cascarilla de arroz por fermentación batch con la levadura *Candida guilliermondii*, aislada del fruto de corozo chiquito (*Bactris guineensis*), evaluándose los efectos del tiempo de fermentación en los niveles de producción.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Acondicionamiento de la cascarilla.**

La cáscara de arroz fue sometida a un proceso de limpieza, haciéndola pasar por un tamiz de malla numero cuatro, donde retiraron restos de paja, tallo y otras impurezas. La muestra de cascarilla de arroz fue secada al sol, para reducir su humedad, se realizó la molienda para obtener fracciones con diámetros de partículas diferentes, seguidamente se sometió a un proceso de tamizado logrando obtener la mayor cantidad de partículas comprendidas entre los diámetros de 800 - 1600  $\mu\text{m}$ , 800 - 500  $\mu\text{m}$  y 500 - 250  $\mu\text{m}$ .

### **Hidrólisis ácida de cascarilla de arroz.**

Las muestras de diferentes diámetros de partículas de cascarilla seleccionadas y acondicionadas, se sometieron a una hidrólisis ácida para obtener el hidrolizado hemicelulósico, los experimentos se llevaron acabo en un autoclave modelo 25 x-1, donde se empleó ácido sulfúrico a una concentración del 1%, 2% y 3% (p/v) a temperatura de 121° C, presión de 15 PSI, relación sólido-líquido 10:1 (v/w) y tiempo de 10, 20 y 30 minutos. (Roberto et al. 2003). Luego se determinaron las concentraciones de azúcares reductores (xilosa y glucosa) en los hidrolizados;

asimismo en el hidrolizado previamente seleccionado y concentrado se determinó la concentración de xilosa por cromatografía líquida de alta resolución.

### **Detoxificación del hidrolizado**

Una vez obtenido el hidrolizado se filtró a vacío y se concentró en un rotaevaporador a  $70 \pm 4$  °C hasta retirar un 60% de agua del hidrolizado. Se realizó una sobretitulación del hidrolizado en donde se aumentó el pH a 10, con hidróxido de sodio (NaOH) sólido, posteriormente se disminuyó el pH a 5,8, empleando ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Parajo et al. 1998a). Durante la sobretitulación con hidróxido de sodio y ácido sulfúrico se realizó filtración del precipitado formado en el hidrolizado. Otro procedimiento para detoxificar al hidrolizado rico en xilosa fue el tratamiento con carbón activado, el cual consistió en someter la solución a una clarificación con 2,5% de carbón activado a 200 rpm y 30 °C durante una hora. Luego se filtró y se llevó a autoclave a 100 °C durante 15 minutos para la esterilización del medio (Mussato 2004).

### **Adaptación de la levadura *Candida guilliermondii*.**

Se utilizó la levadura *Candida guilliermondii* de la colección de cepas del laboratorio de microbiología y biotecnología de alimentos de la Universidad de Córdoba, la cual fue aislada del Corozo Chiquito (*Bactris guineensis*). La adaptación se realizó en un erlenmeyer de 250 ml que contenía 100 ml de hidrolizado, en éste se inocularon dos cajas de Petri<sup>®</sup> con colonias de levaduras crecidas en agar Sabouroud. Luego se incubó a 30 °C en un shaker orbital a 120 rpm durante 24 h con la finalidad de adaptar la levadura al medio hidrolizado y a las condiciones del proceso.

### **Condiciones de fermentación.**

Se realizó la fermentación batch en frascos erlenmeyer agitados; en un shaker orbital. Las condiciones de fermentación fueron las siguientes: temperatura de 30 °C, pH del medio de 5,8, agitación de 120 rpm, tamaño de inóculo de 3 g L<sup>-1</sup>. (Silva et al. 2005). Se empleó medio de cultivo con concentración de xilosa de 27,5 g L<sup>-1</sup>. El hidrolizado detoxificado y esterilizado se enriqueció con 20 g L<sup>-1</sup> de extracto de salvado de arroz, 3 g L<sup>-1</sup> de sulfato de amonio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y 0,1 g L<sup>-1</sup> de cloruro de calcio dihidratado (CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O) (Mussato et al. 2004). Estos compuestos fueron preparados separadamente y esterilizados a 121°Cx 20 minutos. Las condiciones de aireación requeridas para favorecer la producción de xilitol se proporcionaron con una relación volumen de líquido a volumen del matraz de 0,4 v/v (Silva et al. 2001b). El proceso de fermentación se realizó durante 120 h, tomándose muestras cada 12 h cuando se analizó la concentración de xilitol y consumo de xilosa, al igual que la concentración de biomasa en el tiempo. Una vez finalizados los análisis se determinó la productividad volumétrica en xilitol y el factor de conversión de xilosa en xilitol ( $y_{P/S}$ ).

### **Diseño experimental**

Para evaluar el hidrolizado de cascarilla de arroz donde se produce la mayor cantidad de azúcares reductores, se empleó un diseño experimental completamente al azar en un arreglo factorial 3 x 3 x 3 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1%, 2 % y 3%; tiempo de 10, 20 y 30 minutos, y diámetro de 800 a 1600 μm, 800 a 500 μm y 500 a 250 μm) para un total de 27 tratamientos con tres repeticiones por tratamiento.

Con el fin de evaluar el tiempo, donde se produce la máxima producción de xilitol en la fermentación del hidrolizado utilizando la levadura *Candida guilliermondii*, se desarrolló un diseño experimental completamente aleatorizado en un arreglo unifactorial, en donde el tiempo se

analizó a 10 niveles y se realizaron tres repeticiones por cada nivel, para medir las respuestas de las variables consumo de xilosa y producción de xilitol. El análisis estadístico de los datos obtenidos durante la obtención del hidrolizado y el proceso de fermentación incluyó la correlación entre las variables dependientes y los tratamientos aplicados y fueron analizados estadísticamente realizando un análisis de varianza y el Test de Tukey, utilizando el paquete estadístico SAS Versión 1 y R Development Core Team (2008).

### **Métodos analíticos**

El análisis de azúcares reductores totales se realizó mediante el método de ácido 3,5-dinitrosalicílico con glucosa como estándar (Millar 1959). Las concentraciones de xilosa y xilitol en el hidrolizado se determinaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), Cromatografo liquido Waters, modelo 600 Controler, utilizando una columna Varian Carbohydrates Ca, con agua como eluyente, temperatura de 90 °C, volumen de muestra de 20 µL, flujo de 0,5 mL minuto<sup>-1</sup>, presión en la columna de 1.070 ± 10 psi y sistema de detección de índice de refracción.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Hidrólisis ácida de cascarilla de arroz**

Los resultados obtenidos en la hidrólisis ácida demuestran que la interacción entre la concentración de ácido sulfúrico y el tiempo tiene un efecto altamente significativo ( $P < 0,05$ ) en la producción de azúcares reductores. Este hecho se puede observar en la figura 1, donde al aumentar el tiempo de hidrólisis se produce un incremento en la concentración de azúcares reductores cuando se utilizan concentraciones de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> del 1% y 2%, siendo este último el que

causa el mayor aumento. Por el contrario, la concentración del  $\text{H}_2\text{SO}_4$  del 3% causa una disminución en la concentración de azúcares reductores al incrementar el tiempo.

Según Roberto et al. (2003) la concentración del ácido es el factor más influyente en el rendimiento obtenido de los azúcares, mientras que la temperatura lo es en la degradación de éstos. Asimismo, el tiempo de mantenimiento de la hidrólisis en el autoclave está muy relacionado con la temperatura de reacción, de esta manera al convertirse la mayor cantidad de hemicelulosa y celulosa a glucosa, xilosa y a otros compuestos sigue la degradación de estas azúcares en compuestos tóxicos como hidroximetilfurfural (HMF), furfural y ácido acético, reduciéndose de manera significativa los azúcares recuperables en el hidrolizado. Este hecho explica el comportamiento de los azúcares reductores durante el desarrollo de la hidrólisis a temperatura constante de 121 °C.

La figura 2 muestra una interacción significativa ( $P_r < 0,05$ ) entre la concentración de ácido sulfúrico y el diámetro de partícula de cascarilla de arroz. En el caso del diámetro de cascarilla de 1600 - 800  $\mu\text{m}$ , la concentración en azúcares reductores aumenta con el aumento de la concentración de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , mientras que la concentración de azúcares reductores tiende a disminuir con los diámetros de partícula comprendidos entre 800 - 500  $\mu\text{m}$  y 500 - 250  $\mu\text{m}$ , al aumentar la concentración de ácido sulfúrico. Una explicación teórica al comportamiento anterior es que los diámetros de menor tamaño de partícula presentan mayor superficie de contacto al ácido, por tanto la difusión de protones del ácido a través de la matriz lignocelulósica húmeda es más rápida. Esto permite la degradación de la hemicelulosa y celulosa a sus respectivos azúcares y la consecuente degradación de estas (Aguiar et al. 2002); por consiguiente, a medida que se

aumenta la concentración de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) y disminuye el diámetro se presenta mayor degradación de los azúcares.

No existe interacción significativa ( $P_r > 0,05$ ) entre el tiempo de hidrólisis y el diámetro de partícula de la cáscara de arroz con respecto a la variable respuesta (azúcares reductores). La figura 3 muestra que el efecto del tiempo de hidrólisis es muy parecido para la concentración de azúcares reductores en cada diámetro de partículas de cascarilla empleados, mostrando la grafica una tendencia paralela entre ellas lo que resalta la carencia de interacción. Keikhosro et al. (2006) evaluaron el efecto de tamaño de la paja de arroz en los rendimientos de la obtención de azúcares y subproductos, utilizando un tamaño normal de paja (2 – 50 mm) y paja de arroz molida entre (295  $\mu\text{m}$  y 833  $\mu\text{m}$ ). Sus resultados muestran que los rendimientos de todos los componentes evaluados fueron prácticamente independientes del tamaño de partícula, excepto los rendimientos de glucosa donde la paja molida mostró un 44% de mayor rendimiento empleando 0,5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , un tiempo de 10 minutos y presión de 10 bares.

Con relación a la prueba de Tukey, se encontró que las medias de concentración de azúcares reductores entre los tratamientos de concentración de ácido sulfúrico del 2 y 3% no presentaron diferencia estadística significativa. Por el contrario, en las medias de los tratamientos de 1% de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , la cantidad de azúcares reductores disminuyó significativamente ( $P_r < 0,05$ ) en un 6,42% y 10% con respecto a las medias de los tratamientos de concentración de ácido sulfúrico del 2 y 3%, respectivamente. Para las medias de los tratamientos de diámetro de partícula de cascarilla, no se presentaron diferencias significativas ( $P_r > 0,05$ ) entre lo diámetros de 500 - 250  $\mu\text{m}$  y entre el diámetro de 800 - 500  $\mu\text{m}$ , como tampoco entre los diámetros de 1600-800  $\mu\text{m}$  y 800-500  $\mu\text{m}$ . Inversamente, si hubo diferencia significativa ( $P_r < 0,05$ ) entre el diámetro de 500 - 250  $\mu\text{m}$  y

1600 - 800  $\mu\text{m}$ , debido a que este último produjo una disminución del 4.6% (28,5  $\text{g L}^{-1}$ ) en la concentración de azúcares reductores con respecto al primero (29,8  $\text{g L}^{-1}$ ). Los tiempos de hidrólisis empleados presentan una diferencia significativa ( $P_r < 0,05$ ) entre las medias de los tratamientos de 10, 20 y 30 minutos; ya que a los 30 minutos la variable respuesta (30,8  $\text{g L}^{-1}$ ), presentó un aumento del 12.4% y 5.7% con respecto a los tratamientos de 10 y 20 minutos respectivamente. Asimismo, los azúcares reductores presentaron una disminución de 7,15% al pasar del tratamiento 20 a 10 minutos. De acuerdo con lo anterior, el hidrolizado seleccionado como caldo para la fermentación en la evaluación de obtención de xilitol fue el resultante de las siguientes condiciones: 2% de ácido sulfúrico, diámetro entre 800 - 500  $\mu\text{m}$  y tiempo de reacción de 30 minutos con un contenido de azúcares reductores de 32,5  $\text{g L}^{-1}$ .

Para la selección del hidrolizado no solo se tuvieron en cuenta los tratamientos con mayor concentración de azúcares reductores, sino también las diferencias significativas entre los tratamientos y los costos inherentes al utilizar un ácido de mayor concentración o un tiempo de reacción mayor. Estos resultados son comparables a los reportados por Roberto et al. (2003) en la obtención de hidrolizados de paja de arroz, donde la más alta concentración de xilosa (25  $\text{g L}^{-1}$ ) y glucosa (6  $\text{g L}^{-1}$ ) son reportadas al utilizar la concentración de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  del 1,6% y 30 minutos de tratamiento.

### **Contenido de xilosa y de azúcares reductores totales en el hidrolizado seleccionado para la fermentación.**

Los resultados del análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), muestran que la concentración de xilosa obtenida en el hidrolizado de 2% de ácido sulfúrico, diámetro entre 800 - 500  $\mu\text{m}$  y tiempo de reacción de 30 minutos, fue de 9,9  $\text{g L}^{-1}$ , siendo la concentración de azúcares

reductores totales de  $32,5 \text{ g L}^{-1}$ , de esta manera en el licor hidrolizado se encuentran presentes otros azúcares reductores como la glucosa y arabinosa. De acuerdo con estos resultados, la cascarilla de arroz es una importante fuente de azúcares reductores por su alto contenido en celulosa (34,3 – 43,8%) (Yufero 2002); sin embargo, las concentraciones de xilosa alcanzadas son bajas comparadas con resultados obtenidos en otros materiales lignocelulosicos como bagazo de caña de azúcar, eucalipto, paja de arroz y de trigo, los cuales presentaron concentraciones de xilosa de 22,7; 24,32; 18,33 y  $10,65 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente (Martínez et al. 2002). Por otro lado el proceso de concentración a vacío del hidrolizado aumentó la concentración de xilosa a  $27,5 \text{ g L}^{-1}$ . Durante este proceso también se concentran el resto de azúcares (glucosa y arabinosa entre otras) y compuestos inhibidores, particularmente poco volátiles, como el ácido acético y los liberados de la lignina, con lo que se ocasionaría efectos nocivos sobre la levadura durante la fermentación; sin embargo, hay compuestos volátiles (hidroximetilfulfural y furfural) que disminuyen durante el proceso de concentración al vacío (Mussatto et al. 2005).

### **Obtención de xilitol**

Los resultados (Figura 4) muestran que desde el inicio hasta las 24 h de fermentación, la concentración de biomasa aumenta, mientras que la concentración de xilosa comienza a disminuir sin ninguna producción de xilitol. A partir de las 24 h hasta las 72 h de fermentación se observó que la levadura sigue con el crecimiento celular acelerado, pero asociado a una acumulación lenta del metabolito de interés (xilitol) y al consumo de xilosa. Luego de las 72 horas el crecimiento disminuye considerablemente, tendiendo a ser constante asociado a la producción de xilitol y consumo de xilosa. Según Sampaio et al. (2005), el xilitol no está directamente asociado al crecimiento de la levadura y aunque no está disociado totalmente de éste, el consumo de xilosa y la producción de xilitol son considerablemente pequeños cuando las velocidades de crecimiento

son máximas. De esta forma, al inicio de la fermentación, la mayor parte del sustrato consumido corresponde a aquellos azúcares más fácilmente asimilables como la glucosa pero a medida que pasa el tiempo y una vez agotada la glucosa, el consumo de xilosa aumenta y se empieza a acumular xilitol, el cual está asociado a una desaceleración en el crecimiento.

Según los análisis estadísticos el tiempo de fermentación es altamente significativo ( $P < 0,05$ ) en la producción de xilitol y el consumo de xilosa por *Candida guilliermondii*, pues al aumentar el tiempo de fermentación aumenta la concentración de xilitol en el hidrolizado, y asimismo disminuye la concentración de xilosa en el medio hidrolizado. Con relación a la prueba de Tukey, se encontró que en el consumo de xilosa, el tiempo de fermentación mostró diferencia significativa solo entre los niveles de 24, 36, 60, 84, 108 y 120 h de fermentación, observándose que el consumo de xilosa desde las 36 horas hasta las 108 h de fermentación presentó diferencia significativa entre las mediciones realizadas cada 24 h. De esta manera, la levadura *Candida guilliermondii* mostró un lento consumo de xilosa como sustrato.

Durante la fermentación se observó que la producción de xilitol fue baja, siendo la producción máxima de xilitol de  $2,6 \text{ g L}^{-1}$  obtenido después de 120 h de fermentación (Figura 4), presentando un rendimiento de sustrato en producto ( $Y_{p/s}$ ) de  $0,13 \text{ g g}^{-1}$  y una productividad volumétrica de xilitol de ( $Q_p$ ) de  $0,02 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . Los rendimientos de xilitol en el tiempo de fermentación para esta investigación no son similares a ninguno de los estudios realizados por diferentes autores en fermentaciones de hidrolizados de paja de arroz por la levadura *Candida guilliermondii*, debido a las diferencias existentes en las condiciones en que se desarrollan los experimentos y por el gran número de variables que influyen en el metabolismo de la levadura durante la obtención de este metabolito. Silva et al. (2005) en su estudio de optimización de la obtención de xilitol en

hidrolizado de paja de arroz por *Candida guilliermondii* reporta una máxima concentración de xilitol de  $52,4 \text{ g L}^{-1}$ , en 96 h de fermentación, con rendimiento de sustrato en producto ( $Y_{p/s}$ ) de  $0,65 \text{ g g}^{-1}$  y una productividad volumétrica de xilitol de ( $Q_p$ ) de  $0,54 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , el cual está muy distante del ( $Q_p$ ) de  $0,02 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  obtenido en esta investigación.

El bajo rendimiento de xilitol obtenido durante los ensayos, podría estar influenciado por la insuficiente concentración de xilosa inicial disponible ( $27,5 \text{ g L}^{-1}$ ), teniendo en cuenta que una alta concentración de sustrato incrementa la concentración final del producto en el caldo hidrolizado, (Silva *et al.*, 2005). Los valores óptimos reportados de concentración de xilosa para la producción de xilitol están entre  $60$  y  $80 \text{ g L}^{-1}$ . Silva *et al.* (2001a), reporta una concentración de xilosa inicial de  $82 \text{ g L}^{-1}$ , en donde se optimiza la producción de xilitol ( $52 \text{ g L}^{-1}$ ) con un factor de rendimiento de  $0,65$ .

La figura 4 muestra que después de las 120 h sólo se ha consumido el 63% de la concentración inicial de xilosa. Uno de los factores que afectan el consumo de xilosa es la procedencia del hidrolizado, debido a las diferencias que existen entre las concentraciones y relaciones de los compuestos que lo conforman, incluyendo a los inhibidores. Con relación a esto, al hidrolizado seleccionado no se le realizó análisis para caracterizar las concentraciones y tipos de azúcares e inhibidores existentes, pero el hidrolizado presentó una concentración de azúcares reductores totales de  $23,5 \text{ g L}^{-1}$ , lo que indica la presencia de otros tipos de azúcares diferentes a la xilosa. Este hecho pudo causar una disminución en el consumo de la xilosa por la levadura; según Timothy *et al.* (1999), la producción máxima de xilitol obtenida en su estudio fue de  $6,0 \text{ g L}^{-1}$  al realizar sus ensayos con mezclas de glucosa, xilosa y arabinosa empleando una concentración inicial de xilosa de  $25 \text{ g L}^{-1}$ . Igualmente el hidrolizado podría haber contenido compuestos que

inhibieron la fermentación de xilosa por la levadura. La presencia de estos compuestos (hidroximetilfurfural, furfural y ácido acético) en el hidrolizado no se comprobó, existiendo la posibilidad de estar en altas concentraciones. Estos inhibidores pueden presentarse, incluso en tratamientos de obtención de hidrolizados pocos severos, como resultado de la hidrólisis ácida por la degradación de azúcares, constituyéndose en un factor importante en la obtención de bajos rendimientos de xilitol debido a que éstos pueden presentar serias interferencias en los procesos de fermentación (Silva *et al.*, 2001b).

Aunque se aplicaron diferentes tratamientos para la reducción de inhibidores en el hidrolizado, tales como tratamiento con carbón activado y adaptación de la levadura en el hidrolizado, no se realizaron tratamientos de eliminación de éstos por separado. Hay que tener en cuenta que la toxicidad de estos compuestos se puede ver aumentada por la procedencia del hidrolizado o por algunas de las condiciones de fermentación usadas, entre las que se encuentran condiciones fisiológicas de las células, concentración de oxígeno disuelto y pH (Mussatto *et al.* 2004); a esto se le suma el efecto sinérgico existente cuando se combinan fenoles, compuestos aromáticos y ácidos (Parajo *et al.*, 1998a). Asimismo las condiciones de aireación, posiblemente afectaron los rendimientos de xilitol, teniendo en cuenta que las tasas altas de aireación favorecen la toma de xilosa y la división celular, mientras que las tasas bajas favorecen el rendimiento de sustrato en producto (Santos *et al.* 2003).

## CONCLUSIONES

- El hidrolizado de cascarilla de arroz obtenido en condiciones de concentración de ácido sulfúrico de 2%, diámetro entre 800-500  $\mu\text{m}$  y tiempo de reacción de 30 minutos, es una

fuentes de azúcares reductores que podrían ser aprovechables para la producción de xilitol al optimizar las condiciones de fermentación.

- La producción de xilitol por *Candida guilliermondii*, muestra que la levadura aislada como cepa nativa del corozo chiquito (*Bactris guineensis*) es capaz de bioconvertir xilosa a xilitol bajo condiciones específicas de fermentación.
- La producción máxima de xilitol obtenido y la productividad volumétrica, así como el rendimiento de sustrato en producto manifiesta que las condiciones de fermentación empleadas para la obtención del metabolito con la levadura de estudio podrían optimizarse.

## REFERENCIAS

- Aguiar, W., Faria, L., Araujo, O. y Pereira, N. 2002.** Growth model and prediction of oxygen transfer rate as a function of inoculum size for Xylitol production from D-xylose for *Candida guilliermondii*. *Biochemical Engineering Journal* 12(1):49-59.
- Fennema, O. 1993.** Química de los alimentos. Editorial Acirbia S.A., Zaragoza, p23-24.
- Keikhosro, K., Shauker, K. y Mohammad, J. 2006.** Conversión of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis. *Biomass and Bioengineering* (30):247-253.
- Mäkinen, K. 2000.** Can the pentitol-hexitol theory explain the clinical observation made with xylitol. *Medical hypotheses* (54):603-613.
- Martínez, E., Villarreal M., Almeida, J., Solenzal, A., Canilha, L. y Mussato, S. 2002.** Uso de diferentes materias primas para la producción biotecnológica de xilitol. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 3(5):295-301.
- Mussato, S. y Roberto, I. 2004.** Kinetic behavior of *Candida guilliermondii* yeast during xylitol production from highly concentrated hydrolysate. *Process biochemistry* 39:1433-1439.

- Mussatto, S., Dragone, G. y Roberto, I. 2005.** Influence of the toxic compounds present in brewer's spent grain hemicellulosic hydrolysate on xylose-to-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. *Process Biochemistry* 40:3801-3806.
- Parajo, J., Domínguez H. y Domínguez J. 1998a.** Biotechnological production of xylitol. Part 3: operation in culture media made from lignocellulose hydrolysates. *Bioresource Technology* 66:25-40.
- Roberto, I., Mussatto, S. y Rodríguez, R. 2003.** Dilute-Acid Hydrolysis for Optimization of Xylose Recovery from Rice straw in a Semi-Pilot Reactor. *Industrial Crops And Products* 17:171-176.
- Sampaio, F., Mantovani, H., Passos, F., De Moraes, C. y Converti, A. 2005.** Bioconversion of D-xylose to Xylitol by *Debaryomyces hansenii* UFV-170. *Process Biochemistry* 40(11):3600-3606.
- Santos, J., Carvalho, W., Silva, S. y Converti, A. 2003.** Xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate in fluidized bed reactor, effect o air flowrate. *Biochemical Engineering Journal* 25:25-31.
- Silva, C. y Roberto, I. 2001a.** Optimization of xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI-20037 using response surface methodology. *Process Biochemistry* 36:1119-1124.
- Silva, C. y Roberto, I. 2001b.** Improvement of xylitol by *Candida guilliermondii* FTI 20037 previously adapted to rice straw hemicellulosic hydroliysate. *Applied Microbiology* 32(4):248-252.
- Silva, C., Mussatto, S. y Roberto I. 2005.** Study of xylitol production by *Candida guilliermondii* on a bench bioreactor. *Journal of Food Engineering* 75:115-119.
- Timothy, D. y Bruce S. 1999.** Xylitol production from corn fibre hydrolyzates by a two-stage fermentation process. *Process Biochemistry* 35:765-769.
- Yufera E. 2002.** *Tecnología de Cereales*. Editorial Acirbia, Zaragoza, 337p.

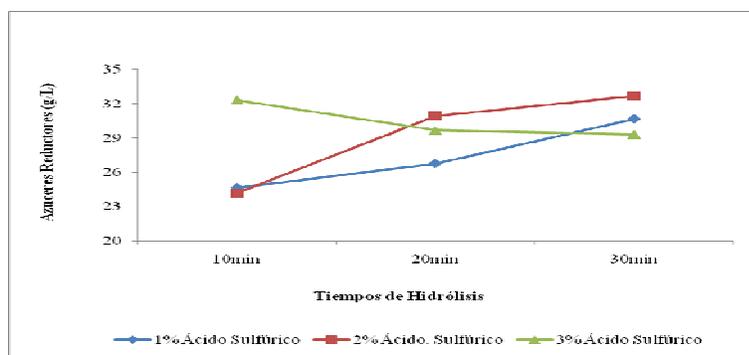


Figura 1: Comportamiento de azúcares reductores para diferentes concentraciones de ácido sulfúrico en el tiempo de hidrólisis de cascarrilla de arroz.

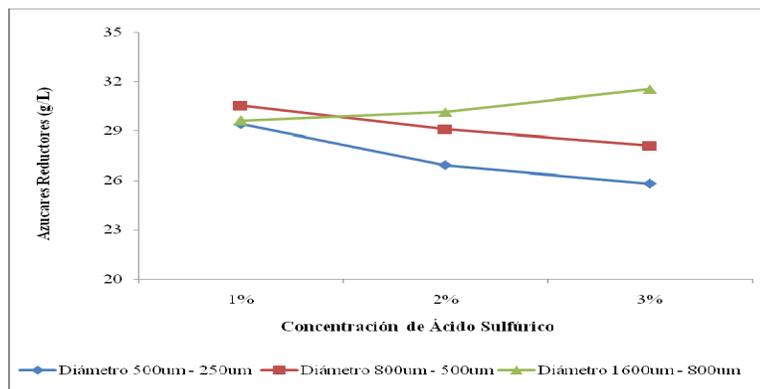


Figura 2: Comportamiento de azúcares reductores para diferentes concentraciones de ácido sulfúrico y diametro de partícula de cascarrilla de arroz.

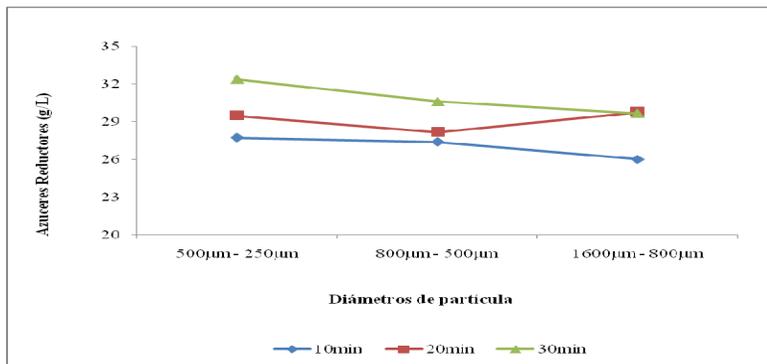


Figura 3: Comportamiento de azúcares reductores para diferentes tiempos de hidrólisis y diametro de partícula de cascarrilla de arroz.

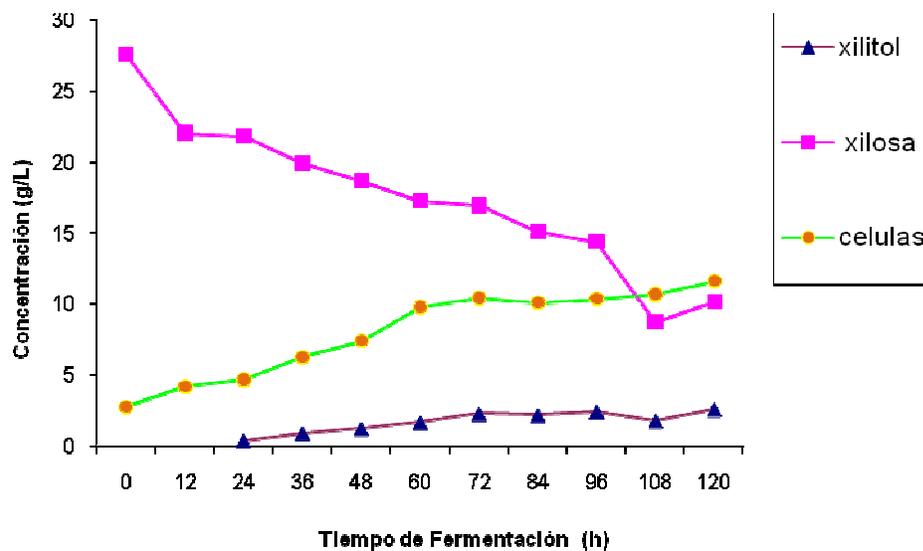


Figura 4: Grafico de comportamiento de xilosa, biomasa celular y xilitol durante la fermentación del hidrolizado.