



ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar

ISSN: 0138-6204

revista@icidca.edu.cu

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar  
Cuba

Acosta, Ernesto; Batista de Almeida, João; Giulietti, Marco; Frade, Juliana Aparecida; Nápoles, Ana Irene; Manganelly, Edilberto

Producción de xilitol en fermentador de 15 litros

ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. XXXIX, núm. 3, septiembre-diciembre, 2005, pp. 45-51

Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar  
Ciudad de La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120688008>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica  
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



## Producción de xilitol en fermentador de 15 litros

Ernesto Acosta<sup>1</sup>, João Batista de Almeida<sup>2</sup>, Marco Giuliatti<sup>3,4</sup>,  
Juliana Aparecida Frade <sup>2</sup>, Ana Irene Nápoles<sup>1</sup>, Edilberto Manganelly<sup>1</sup>

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA)

2. Faculdade de Engenharia Química de Lorena (FAENQUIL), C. Postal 116,  
CEP 12600-970, Lorena, SP, Brasil.

3. Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT-SP),  
C. Postal 0141, CEP 01064-970, SP, Brasil.

4. Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), SP, Brasil.  
e-mail: ernesto.amartinez@icidca.edu.cu

### RESUMEN

*Este trabajo está relacionado con la bioconversión de xilosa en xilitol a partir de medio sintético y de hidrolizado hemicelulósico de bagazo de caña de azúcar por *C. guilliermondii* en fermentador de 15 litros. Los licores fermentados fueron centrifugados, tratados con base y resinas de intercambio iónico y posteriormente concentrados. Fueron obtenidos siropes con 745,3 g/L de xilitol a partir de medio sintético y 935,4 g/L de xilitol y 13,1 g/L de arabinosa a partir de hidrolizado.*

**Palabras clave:** xilosa, xilitol, intercambio iónico, fermentación.

### ABSTRACT

*The bioconversion of xylose into xylitol using synthetic medium and sugarcane hemicellulosic hydrolysate by *C. guilliermondii* was carried out in a 15-liter fermentator. The fermented broths were centrifugated, treated with base and ion-exchange resins and subsequently concentrated. Syrups were obtained with 745.3 g/L of xylitol from synthetic medium and 935.4 g/L of xylitol and 13.1 g/L of arabinosa from hydrolysate.*

**Key words:** xylose, xylitol, ion-exchange, fermentation.

## INTRODUCCIÓN

La comunidad científica está muy preocupada con los problemas ambientales dedicándose cada vez más al estudio de la utilización de los residuos vegetales y los subproductos agroindustriales en la obtención de derivados mediante el empleo de tecnologías químicas y bioquímicas.

El uso diversificado del bagazo de la caña de azúcar; residuo típico en países tales como Brasil, India y Barbados, es una alternativa que podría estabilizar la industria azucarera [1]. A pesar de ser utilizado como combustible en las industrias sucroalcoholeras, alimenticias, papeleras y químicas, grandes cantidades de bagazo son acumuladas en la naturaleza [1,2].

El xilitol, un alcohol pentahidroxilado de la xilosa, puede ser producido a partir de hidrogenación catalítica o por la biosíntesis de la xilosa obtenida por la hidrólisis de los materiales lignocelulósicos [3,4,5]. Este poliol es usado en la confección de productos para la higiene bucal, alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos [6-9].

La vía microbiológica de producción de xilitol se presenta como una alternativa a la vía química, pues se puede realizar en condiciones moderadas de temperatura y presión y su empleo puede reducir los altos niveles de contaminación ambiental y los gastos relacionados con el tratamiento de los residuos producidos por la vía química [10-11].

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el proceso de producción de xilitol a partir de la fermentación de medio sintético y de hidrolizado hemicelulósico de bagazo de la caña de azúcar por *Candida guilliermondii* a escala de 15 litros.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención y tratamiento del hidrolizado

El bagazo desmeollado proveniente del Ingenio Azucarero "Camilo Cienfuegos", ubicado en la provincia cubana de Matanzas, fue lavado y secado a temperatura ambiente al aire libre, con el objetivo de disminuir su contenido de humedad. El proceso de hidrólisis ácida se realizó en un reactor de acero inoxidable de 100 L de capacidad, a 145-150 °C durante 30 minu-

tos, empleándose 65 g de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98 %) y una relación de 3,5 kg de bagazo: 20 L de agua. El pH del hidrolizado se aumentó a 5,00 con resina aniónica débil 039RAD, Quimicagua y se concentró a vacío en un rotoevaporador Büchi (Laboratoriums-TechnikAG, Suecia) de 50 L de capacidad a una temperatura de 65±5 °C. Posteriormente, el hidrolizado se trató con las resinas de adsorción MN-150, aniónica fuerte A-860S, catiónica fuerte C-155S y aniónica débil A-103S según Martínez [12].

### Preparación del inóculo

El inóculo se preparó mediante el cultivo de la levadura *Candida guilliermondii*, de la colección de cepas del Grupo de Microbiología Aplicada y Bioprocesos del Departamento de Biotecnología de la FAEN-QUIL, con xilosa (30 g/L) y nutrientes sulfato de amonio (3 g/L), cloruro de calcio (0,1 g/L) y extracto de salvado de arroz (20 g/L), en frascos Erlenmeyer de 500 mL con 250 mL de medio, colocados en agitador rotatorio a 30 °C durante 24 h. Después el medio fue transferido para un Erlenmeyer de 2000 mL con 1200 mL de hidrolizado esterilizado con vapor, lo cual se corresponde con el 10 % del volumen útil del fermentador [12].

### Medio y condiciones de fermentación

La fermentación de medio sintético y de hidrolizado hemicelulósico (108 g/L de xilosa y 2 g/L de glucosa) por *C. guilliermondii* fue realizada en fermentador tipo Bioengineering AG L1523 de 15 L en las condiciones de pH 5,0 a 30 °C, 300 rpm y coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno igual a 30 h<sup>-1</sup>.

### Tratamiento de los licores fermentados

El medio fermentado se centrifugó a 2000/g por 15 min en centrífuga CU-5000 Damon/IC y el licor fue sometido al proceso de filtración después de la adición de NaOH 3N hasta pH 7,0. Seguidamente, el licor rico en xilitol se trató con la resina catiónica C-504 y la resina aniónica A-505 y posteriormente fue sometido al proceso de concentración a vacío para aumentar el contenido de xilitol.

### Métodos analíticos

La determinación de los azúcares (xilosa, glucosa y arabinosa), ácido acético y xili-

tol fue realizada por cromatografía líquida de alta resolución (Waters 410, USA) usando un detector de índice de refracción (IR), columna HPX-87H (300x7,8 mm), fase móvil ácido sulfúrico 0,01 N, 45 °C y 0,6 mL/min de flujo.

El coeficiente de transferencia de oxígeno se determinó según el método de "gas-sing-out" descrito por Bartolomew y otros [13].

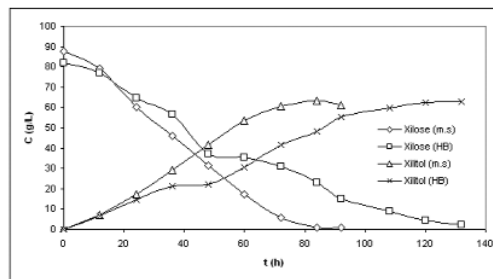
La concentración celular se determinó a partir de la medición de absorbancia en espectrofotómetro BECKMAN a 600 nm en función del peso seco de las células.

Las velocidades de crecimiento ( $dx/dt$ ), consumo de sustrato ( $ds/dt$ ) y de formación de xilitol ( $dp/dt$ ) fueron calculadas por el método propuesto por Le Duy y Zajic [14]. Las velocidades específicas de crecimiento ( $\mu_x$ ), consumo de xilosa ( $q_s$ ) y de producción de xilitol ( $q_p$ ) fueron obtenidos por la división de las velocidades instantáneas por la concentración celular en los puntos donde se calcularon las derivadas.

La determinación de proteínas totales se realizó utilizando el método de LOWRY [12].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

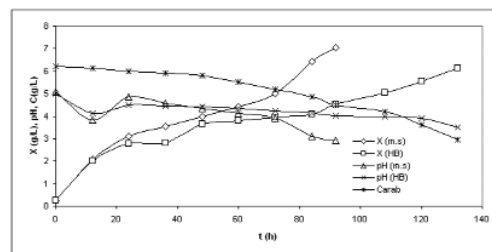
En las figuras 1 y 2 se pueden observar los perfiles de consumo de xilosa y arabinosa, la producción de xilitol, el crecimiento celular y del pH durante el proceso discontinuo de producción de xilitol por *C. guilliermondii* en medio sintético y en hidrolizado hemicelulósico.



**Figura 1.** Consumo de xilosa y producción de xilitol por *C. guilliermondii* en medio sintético (m.s.) e hidrolizado hemicelulósico de bagazo (HB) durante el proceso fermentativo discontinuo en reactor de 15 litros

El consumo de xilosa fue favorecido en medio sintético encontrándose valores de 99,14 % de consumo después de 92 horas de fermentación. En este medio se obtuvo el mayor valor de productividad volumétrica en xilitol (0,665 g/L.h). En el hidrolizado tratado con resinas de intercambio iónico se constató un 97,99 % de xilosa consumida después de 132 horas de fermentación.

El xilitol, principal producto de la conversión de la xilosa, se produjo en concentraciones de 61,20 y 63,05 g/L en medio sintético e hidrolizado, respectivamente. Converte y otros [15], a partir de 89 g/L de xilosa, presente en hidrolizado de madera dura, obtuvieron 39,5 g/L de xilitol después de 96 horas de fermentación por *Pachysolen tannophilus*.



**Figura 2.** Crecimiento celular, pH y consumo de arabinosa durante la producción de xilitol por *C. guilliermondii* en medio sintético (m.s.) e hidrolizado hemicelulósico de bagazo (HB) durante el proceso de fermentación discontinuo en reactor de 15 litros

El mayor crecimiento celular (7,05 g/L) se obtuvo en medio sintético lo que se corresponde con un mayor factor de conversión de xilosa en células (0,0781 g/g) (figura 2).

La arabinosa, presente en el hidrolizado (6 g/L), se consumió parcialmente (52,41 %) a lo largo del proceso fermentativo. Según Affleck [16], un 40 % de arabinosa presente en un medio sintético, simulando un hidrolizado hemicelulósico de maíz, fue consumida después de 170 horas de fermentación por *Candida tropicalis* en un reactor de 1 litro.

Mayores valores de rendimiento de xilosa en xilitol (0,8549 g/g) y de eficiencia de la fermentación (81,81 %) se obtuvieron a partir de hidrolizado hemicelulósico.

Estudios realizados por Silva y Roberto [17], sobre el efecto de la concentración de xilosa y de inóculo en la producción de xilitol por *C. guilliermondii* en hidrolizado hemicelulósico de paja de arroz, reportaron como mejores resultados de producción de xilitol (52,0 g/L) y de factor de rendimiento en xilitol (0,6500 g/g) en las condiciones iniciales de 82 g/L de xilosa y 3 g/L de células.

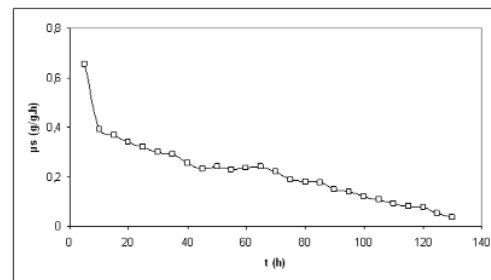
Diz y otros [18], en estudios de la producción de xilitol a partir de hidrolizado de madera de eucalipto (80 g/L de xilosa), tratado con carbón activado, por *Debaryomyces hansenii* reportaron máximos valores de producción de xilitol (40 g/L), productividad volumétrica (0,40 g/L.h) y rendimiento en xilitol (0,57 g/g) después de 100 horas de fermentación.

Canilha y otros [19], reportaron que los mayores valores de productividad volumétrica (0,68 g/L.h) y de rendimiento en xilitol (0,76 g/g) a partir de la fermentación de hidrolizado hemicelulósico de eucalipto tratado con resinas de intercambio iónico por *C. guilliermondii*, en frascos Erlenmeyer de 250 mL.

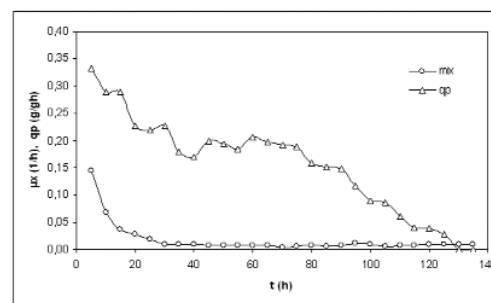
El comportamiento cinético de la levadura en hidrolizado hemicelulósico fue evaluado y los resultados se muestran en las figuras 3 y 4. Como se puede observar en la figura 4, el mayor valor de velocidad específica de crecimiento celular ( $\mu_x = 0,144 \text{ h}^{-1}$ ) fue alcanzado en la fase inicial de cultivo. Se puede constatar que, después de un período de 10 horas, cuando comenzó el consumo de la xilosa, la velocidad específica de crecimiento celular disminuyó para  $0,067 \text{ h}^{-1}$ . Un comportamiento similar fue constatado también por Nolleau y otros [20] y Roberto y otros [21] durante el cultivo de *C. guilliermondii* en hidrolizados hemicelulósicos de madera y de paja de arroz, respectivamente.

El máximo valor de velocidad específica de producción de xilitol ( $q_p = 0,227 \text{ g/g.h}$ ) después de 20 horas de fermentación fue superior al encontrado por Roberto y otros [21] en fermentación de hidrolizado de paja de arroz (0,12 g/g.h), comportamiento que puede ser atribuido a la presencia de compuestos como el furfural y el ácido acético en este hidrolizado los cuales actúan como inhibidores del crecimiento microbiano.

En la figura 4 se puede observar después de las 10 horas de fermentación una dismi-



**Figura 3.** Variación de la velocidad específica de consumo de xilosa durante la fermentación de hidrolizado hemicelulósico de bagazo de caña de azúcar tratado con resinas de intercambio iónico, por *C. guilliermondii* en reactor de 15 litros.



**Figura 4.** Variación de la velocidad específica de crecimiento celular (o) y de formación de xilitol (D) durante la fermentación de hidrolizado hemicelulósico de bagazo de caña de azúcar tratado con resinas de intercambio iónico, por *C. guilliermondii* en reactor de 15 litros.

nución en el tiempo de las velocidades específicas de crecimiento celular y de producción de xilitol.

Los licores fermentados a pesar de ser ricos en xilitol, contienen levaduras y fragmentos de éstas, así como otros contaminantes tales como ingredientes del medio de cultivo, sustrato residual y subproductos de la fermentación. Mediante el proceso de centrifugación fue posible extraer 2,99 y 2,50 % de biomasa del medio fermentado a partir de xilosa comercial (11,7 Kg) y de hidrolizado (11,0 Kg), respectivamente. Después de esta etapa fue constatado un aumento en la concentración de xilitol de 61,2 para 67,1 g/L en el licor fermentado a

**Tabla 1.** Características químicas de las muestras de hidrolizado fermentado sometido a diferentes niveles de pH después del proceso de centrifugación.

Muestra	Xilosa (g/L)	Arabinosa (g/L)	Xilitol (g/L)	RPT (%)
Inicial	2,28	2,76	68,17	-
pH 5,0	2,20	2,75	67,78	1,15
pH 6,0	2,19	2,59	66,99	3,34
pH 7,0	2,18	2,62	67,54	26,42
pH 8,0	2,17	2,47	66,70	22,23
pH 9,0	2,09	2,46	66,30	26,06

RPT: Remoción de proteína total.

partir de medio sintético y de 60,0 para 68,17 g/L en el fermentado a partir de hidrolizado.

En la tabla 1 se presentan las características físico-químicas de las muestras de hidrolizado fermentado sometido a diferentes niveles de pH mediante la adición de NaOH 3N después del proceso de centrifugación. Después de transcurridas 2 horas de la adición de la base, se observó que el aumento del pH desde 3,64 hasta 5,0 y 6,0 no tuvo ningún efecto. Por otro lado, se constató la formación de precipitado cuando el pH se incrementó hasta valores entre 7,0 y 9,0.

El proceso de precipitación y sedimentación fue más rápido a pH 7,0 donde hubo una menor pérdida de xilitol (0,92 %) en el licor sobrenadante y mayor remoción de proteínas totales (26,42 %) según resultados obtenidos utilizando el método de Lowry. Este método puede sufrir interferencia de azúcares y aminoácidos presentes en la solución fermentada por lo que fue utilizada como una medición cuantitativa de los productos retenidos en el permeado, o sea, de los materiales positivos al método.

De manera visual fue posible observar que los precipitados formados al aumentar el pH hasta 7,0 de los dos licores fermentados tenían la misma coloración y textura, por lo que fue realizada una prueba para saber si los nutrientes adicionados en la fermentación eran los agentes precipitantes. Para ello, se preparó una mezcla de nutrientes en la composición correspondiente a la adicionada en la fermentación y se le adicionó base observándose la formación de un precipitado muy parecido a los formados

con los licores de xilitol, lo que corrobora lo anteriormente expuesto.

Este hecho indicó la necesidad de estudiar el efecto de la concentración inicial de nutrientes (en especial del extracto de salvado de arroz) en la fermentación. Los resultados de este estudio indicaron que 5 g/L de extracto de cáscara de arroz son suficientes para el proceso de fermentación y no 20 g/L lo cual simplifica esta etapa de tratamiento con base y centrifugación.

Los licores fueron posteriormente concentrados y purificados con resinas de intercambio iónico A-505 y C-505. Durante esta etapa de purificación se constató una disminución en la concentración de arabinosa del 17,6 % así como en la intensidad del color de ambos siropes. Por otro lado, hubo una pérdida de 8,15 y 15,23 % de xilitol en los siropes a partir de medio sintético y de hidrolizado después de esta etapa, respectivamente.

Finalmente, mediante la concentración, fueron obtenidos siropes con 745,3 y 935,4 g/L de xilitol a partir de medio sintético y de hidrolizado, respectivamente. El sirope de xilitol obtenido de hidrolizado tenía, además en su composición; 13,1 g/L de arabinosa.

## CONCLUSIONES

El proceso de fermentación de medio sintético y de hidrolizado hemicelulósico de bagazo de caña de azúcar realizado en fermentador de 15 litros permitió obtener productividades volumétricas en xilitol iguales a 0,665 y 0,478 g/L.h y factores de rendimiento en xilitol a partir de xilosa

iguales a 0,7024 y 0,7502 g/g, respectivamente.

Mediante el proceso de purificación y concentración de los licores fermentados fueron obtenidos siropes con 745,3 g/L de xilitol a partir de medio sintético y 935,4 g/L de xilitol y 13,1 g/L de arabinosa a partir de hidrolizado.

## AGRADECIMIENTOS

Apoyo financiero de FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), Brasil.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ICIDCA. Manual de los Derivados de la Caña de Azúcar,. 3ra. Ed. La Habana: Imprenta MINAZ, 2000. 458 p.
2. Macedo, I. C. Greenhouse gas emissions and energy balances bio-ethanol production and utilization in Brazil. Biomass and Bioengineering (Estados Unidos) 14(1): pp. 77-81, 1998.
3. Mikkola, J. P. Hydrogenation of xylose to xylitol over Raney-Nickel catalyst-towards na improved production technology. Tesis de Doctorado. Faculty of Chemical Engineering, Abo Academy, 1999.
4. Parajó, J. C.; Dominguez, H.; Dominguez, J. M. Biotechnological production of xylitol. Part 1: Interest of xylitol and fundamentals of its biosynthesis. Bioresource Technology (Estados Unidos) 66 : p. 25-40, 1998.
5. Martínez, E. A.; Villarreal, M. L. M.; Almeida e Silva, J. B.; Solenzal, A. I. N.; Canilha, L.; Mussatto, S. I. Uso de diferentes materias primas en la producción biotecnológica de xilitol. Ciencia y Tecnología Alimentaria (España) 3(5) p. 295-301, 2002.
6. Emodi, A. Xylitol its properties and food applications. Food Technology (Estados Unidos) Jan. p: 28-32, 1978.
7. Uhari, M.; Kontiokari, T.; Niemela, M. A novel use of xylitol sugar en preventing acute otitis media. Pediatrics (Estados Unidos) 42(4): p. 879-884, 1998.
8. Makinen, K. K. Can the pentitol-hexitol theory explain the clinical observations made with xylitol?. Medical Hipótesis (Estados Unidos). 54: p. 603-613, 2000.
9. Itawa, C.; Nakagaki, H.; Morita, I.; Sekita, T.; Goshima, M.; Abe, T.; Isogai, A.; Hanaki, M.; Kuwahara, M.; Tatematsu, M.; Robinson, C. Daily use of dentrifice with and without xylitol and fluoride: effect on glucose retention in humans in vivo. Archives of Oral Biology (Estados Unidos). 48 p. 389-395, 2003.
10. Molwitz, M.; Silva, S. S.; Ribeiro, J. D.; Roberto, I. C.; Felipe, M. G. A.; Prata, A. M.R.; Mancilha, I. M. Aspects of the cell grown of *Candida guilliermondii* in sugar cane bagasse hydrolysate. Z.Naturforsch (Alemania) 51c, 1996.
11. Winkelhausen, E.; Kuzmanova, S. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. Journal of Fermentation and Bioengineering (Estados Unidos) 86(1): p. 1-4, 1998.
12. Martínez, E. A. Estudo do processo de cristalização de xilitol obtido por via fermentativa. Tesis de Doutorado. Faculdade de Engenharia Química de Lorena, São Paulo, Brasil, 2005.
13. Bartolomew, W. H.; Karow, E. O.; Satf, M. R.; Wihlem, R. H. Industrial Engineering Chemical (Estados Unidos) (42): p. 1801, 1950.
14. Le Duy, A. ; Zajic, J. E. A. A geometrical approach for differentiation of an experimental function at a point: Applied to growth and product formation. Biotechnology and Bioengineering (Estados Unidos). 15(4): p. 805-815, 1973.
15. Converti, A.; Perego, P.; Dominguez, J. M. Xylitol production from hardwood hemicelulosic hydrolysates by *Pachysolen tannophilus*, *Debaryomyces hansenii* and *Candida guilliermondii*. Applied Biochemistry and Biotechnology (Estados Unidos). 82: p. 141-151, 1999.
16. Affleck, R. P. Recovery of xylitol from fermentation of model hydrolysates using membrane technology Thesis of Master of Science. State University of Virginia, 2000.
17. Silva, C. J. S. M.; Roberto, I. C. Improvement of xylitol production by *Candida guilliermondii* previously adapted to rice straw hemicellulosic hydrolysate. Letters Applied Microbiology (Estados Unidos). 57: p.248-252, 2001.
18. Diz, J.; Cruz, J. M.; Domínguez, H.; Parajó, J. C. Eucalyptus. Food Technology

- and Biotechnology (Estados Unidos). 40(3):p. 191-197, 2002.
19. Canilha, L.; Almeida e Silva, J. B.; Solenzal, A. I. N. Eucalyptus hydrolysate detoxification with activated charcoal adsorption or ion-exchange resins for xylitol production. Process Biochemistry (Reino Unido) 39:p. 1909-1912, 2004.
  20. Nollet, V.; Preziosi-bello, L.; Navarro, J. M. The reduction of xylose to xylitol by *Candida guilliermondii* and *Candida parapsilosis*: Incidence of oxygen and pH. Current Microbiology (Estados Unidos) 27: p. 191-197, 1995.
  21. Roberto, I. C.; Mancilla, I. M.; Souza, C. A.; Felipe, M. G. A.; Sato, S.; Castro, H. F. Evaluation of rice straw hemicellulosic hydrolysate in the production of xylitol by *C. guilliermondii*. Biotechnology Letters (Estados Unidos). 16(11):p. 1211-1216, 1997.