

Análisis fisicoquímico de las hojas de eucalipto camaldulensis y su hidrolizado, como sustrato en la producción de xilitol¹

Physical chemical analysis of the leaves of *eucalyptus camaldulensis* and its hydrolyzate as a substrate in the production of xylitol

Análise físico-química das folhas de eucalipto camaldulensis e seu hidrolizado como substrato na produção de xilitol

J.A. Gutiérrez, H. Reyes, J.F. Castañeda

Recibido Febrero 25 de 2017 - Aceptado mayo 31 de 2017

Resumen— El eucalipto es utilizado como fuente de energía renovable y en la elaboración de diversos productos a nivel industrial; desperdiciándose hojas y ramas que por su contenido de material lignocelulósico se pueden convertir en materia prima de productos con aplicaciones específicas, por ello, se realizó el análisis fisicoquímico de las hojas y su hidrolizado, para determinar la viabilidad del sustrato en la producción de xilitol, a través de procesos biotecnológicos. Se evaluaron parámetros fisicoquímicos como humedad, actividad de agua (Aw), sólidos solubles totales (°Brix), termogravimetría (TGA), e infrarrojo (IR FT) a la muestra vegetal, y acidez titulable, pH, azúcares reductores (DNS), °Brix e infrarrojo a los hidrolizados, mostrando resultados que permitieron concluir que la biomasa residual del *Eucalypto camaldulensis*, es un potencial sustrato en la producción de xilitol a partir de la reducción biotecnológica de azúcares fermentables como la D-xilosa, utilizando levaduras del género *Candida*.

Palabras clave— parámetros fisicoquímicos, proceso biotecnológico, hidrólisis, xilitol, eucalipto

Abstract- Eucalyptus is used as a source of renewable energy and the development of several products at industrial level; wasted leaves and branches whose content of lignocellulosic material can be converted into raw material product with

specific applications, therefore, physicochemical analysis of leaves and its hydrolyzate was performed to determine the viability of the substrate in the production of xylitol, through biotechnological processes.

Physicochemical parameters such as humidity, water activity (Aw), total soluble solids (° Brix), thermogravimetry (TGA), and infrared (IR FT) to the plant sample, and titratable acidity, pH, reducing sugars (DNS) were evaluated, ° Brix and infrared to hydrolysates, showing results led to the conclusion that the residual biomass *Eucalyptus camaldulensis*, is a potential substrate in the production of xylitol from biotechnological reduction of fermentable sugars such as D-xylose utilizing yeasts *Candida*.

Key words: physicochemical parameters, process biotechnology, hydrolysis, xylitol, eucalyptus.

Resumo - O eucalipto é utilizado como fonte de energia renovável e na elaboração de vários produtos a nível industrial, desperdiçando-se as folhas e galhos que, por seu conteúdo de material lignocelulósico, podem ser convertidos em matéria prima de produtos com aplicações específicas. Portanto, neste trabalho foi realizado um análise físico-química das folhas e seu hidrolizado, com o objetivo de determinar a viabilidade do substrato na produção de xilitol, através de processos biotecnológicos. Na amostra vegetal, foram avaliados parâmetros físico-químicos como humidade, atividade da água (Aw), sólidos solúveis totais (°Brix), comportamento termogravimétrico (TGA) e de espectroscopia de infravermelho (FTIR). Também foram estudados parâmetros tais como: a acidez titulável, o pH e os açúcares reductores (DNS), °Brix e infravermelho aos hidrolizados, mostrando resultados que permitiram concluir que a biomassa residual do *Eucalypto camaldulensis* é um substrato potencial para a produção de xilitol a partir da redução biotecnológica de açúcares

¹ Producto derivado del proyecto de Maestría en Química Obtención de Xilitol a partir del *Eucalyptus camaldulensis*.

J.A. Gutiérrez. Magister en Química, Universidad de Caldas. Manizales. Colombia (jalegut4@hotmail.com).

H. Reyes. Ph.D en Ingeniería y Química Nuclear, docente de la Facultad Ciencias Agroindustriales. Universidad del Quindío. Armenia.

J.F. Castañeda. Ph.D en Química Orgánica, docente del Programa de Licenciatura en Ciencias Naturales, física, química y biología de la Universidad Surcolombiana. Neiva. Colombia

fermentáveis como D-xilose, usando leveduras do gênero *Cândida*.

Palavras chave: Parâmetros físico-químicos, processo biotecnológico, hidrólise, xilitol, eucalipto

I. NOMENCLATURA

Aw: Actividad de agua

TGA: Termogravimetría

IR FT: Infrarrojo con transformada de Fourier

DNS: Determinación de azúcares reductores por el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico.

°Brix: Grados Brix

NTC: Norma técnica colombiana.

II. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado la producción y comercialización de productos, como los edulcorantes naturales y artificiales catalogados como no calóricos, en contraste con la reducción del consumo de azúcares simples o concentrados como la glucosa, fructosa y sacarosa, debido a las necesidades del mercado, que busca productos funcionales, es decir con valor nutricional, pero con poder edulcorante similar a la sacarosa, bajo aporte calórico y disponibilidad a bajo costo [1].

A nivel industrial deben cumplir con ciertas condiciones para ser catalogados como edulcorantes, entre las que se encuentran, la inocuidad, las características organolépticas que le permitan ser percibido inmediatamente, que pueda degradarse rápidamente, ser lo más parecido al azúcar en cuanto al sabor, pero con menor aporte calórico y como consecuencia menos problemas de salud en términos de obesidad, diabetes y caries dental, debe ser termoestable y tener la capacidad de combinación con otros alimentos sin perder sus propiedades fisicoquímicas [2].

Bajo ésta premisa, día a día ganan un importante espacio en el mercado mundial los polioles, cuya característica más importante es que se comportan como el azúcar, pero con menor aporte calórico, tal como lo muestra la tabla I.

TABLA I
EDULCORANTES BAJOS EN CALORÍAS

Edulcorante Bajo en Calorías	Valor Calórico	Valor Calórico en relación al Azúcar	Dulzor en relación al Azúcar
	Calorías/gramo	%	%
POLIOLES			
Eritritol	0,2	5	70-80
Isomalt	2,0	50	45-65
Lactitol	2,0-2,4	50-60	40
Maltitol	2,1	52	90
Manitol	1,6	40	50
Sorbitol	2,4-2,6	60-65	60
Xilitol	2,4	60	100
Otros			
Tagatosa	1,5	38	90-100
Trehalosa	3,6	90	50

Fuente [2]

Dentro de los edulcorantes naturales bajos en calorías, se destaca el xilitol, cuya tasa de producción anual se estima en 200000 Ton, según datos del International Starch Institute [3]. El xilitol es un poliol pentahidroxilado de fórmula molecular $C_5H_{12}O_5$, que ha atraído el interés de muchos investigadores gracias a sus propiedades fisicoquímicas que lo hacen apto para ser usado en la industria farmacéutica, alimenticia, higiene oral, entre otras [4].

Presenta una elevada estabilidad química y microbiológica que le permite actuar como preservante en alimentos, no sufre pardeamiento de Maillard, genera un efecto refrescante en la boca por su calor de disolución endotérmico (34,8cal/g), tiene un poder edulcorante similar a la sacarosa, pero con menor aporte calórico, que lo convierten en una sustancia química ideal para ser utilizada por personas con problemas de obesidad y diabetes, ya que su metabolismo es independiente de la insulina, es anticariogénico, convirtiéndolo en materia prima importante en la fabricación de diversos productos de higiene oral y gomas de mascar.

La literatura reporta aplicaciones en el campo de la salud como prevención de la osteoporosis, la otitis media en los niños, los procesos inflamatorios y las infecciones respiratorias [5].

Se encuentra de forma natural en algunas frutas y verduras, pero su extracción es poco rentable por las bajas concentraciones (900mg/100g) [6].

Es producido industrialmente por hidrogenación química de la D-xilosa, en presencia de un catalizador como el níquel, a altas temperaturas y presiones, convirtiéndolo en un producto costoso debido a las etapas de separación y purificación. Como alternativa han surgido en los últimos años los procesos biotecnológicos (enzimático y microbiano), que podrían ser atractivos en la generación de un producto de alta calidad, bajo costo, ahorro energético y ante todo amigable con el medio ambiente en términos de reducción de contaminantes propios del proceso químico [7].

En cuanto al uso del ultrasonido como pretratamiento para mejorar la disponibilidad de azúcares fermentables en la producción de xilitol, la elección obedece a reportes en la literatura [8] que describen la técnica como:

1. Amigable con el medio ambiente, ya que no genera subproductos contaminantes y difíciles de eliminar, como el furfural y el hidroximetil-furfural, generados en otros pretratamientos.
2. El consumo de energía es menor en comparación con otros, puesto que no se requieren altas temperaturas y presiones.
3. Los costos de producción son bajos por la no utilización de catalizadores que son de alto costo en el mercado como el níquel Raney.
4. Sus aplicaciones en diferentes áreas de la ciencia avalan la técnica.

Los parámetros fisicoquímicos de la biomasa de un material vegetal como éste, es promisorio para la obtención del xilitol, ya que es un proceso biotecnológico de bajo costo y alta productividad. El presente trabajo tiene como objetivo, determinar parámetros fisicoquímicos en las hojas de

Eucalypto camaldulensis y su hidrolizado, en la producción de xilitol vía fermentativa, utilizando cepas del género *candida*, reconocidas en este campo como la *tropicalis* y la *guilliermondii*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Desarrollo experimental

1. Materiales y métodos:

El estudio parte de la selección del material vegetal, tomando muestras de hojas de eucalypto de la finca el progreso, ubicada en la intersección Circasia I, a 12 Kilómetros de la capital del departamento del Quindío y temperatura promedio de 18°C.

El material fue llevado al CIBUQ (Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad del Quindío), para la caracterización taxonómica correspondiente.

2. Preparación de la muestra

El material vegetal fue sometido a una serie de pretratamientos físicos y químicos necesarios en la obtención de un sustrato óptimo para desarrollar procesos fermentativos.

3. Análisis físico

Las hojas de *Eucalypto camaldulensis* fueron retiradas de las ramas, para determinar su masa en balanza analítica (Mettler Toledo P8602-S), luego sometidas a un proceso de secado en un horno de recirculación de aire a temperatura de 40°C, a diferentes tiempos, 24, 48 y 72h, hasta tener masa constante, según la norma NTC 1495.

El material seco se sometió a trituración y molienda (molino eléctrico siemens, 1725 rpm); posteriormente se utilizó un tamiz eléctrico marca Gilson, modelo SS-15 con tamaño de poro de 0,2mm, para obtener un tamaño de partícula que favoreciera los análisis posteriores.

3.1. Análisis químico

Con el material vegetal preparado, se procedió a determinar los parámetros fisicoquímicos, antes y después de hidrolizar por ultrasonido y por hidrólisis ácida, en los laboratorios de diseño de nuevos productos, plaguicidas y análisis instrumental de la Universidad del Quindío.

3.2. Caracterización fisicoquímica del material vegetal

Los parámetros fisicoquímicos determinados fueron: sólidos solubles totales, por refractometría (Mettler Toledo 30PX, intervalo de 0-85 °Brix), por conversión de índice de refracción a °Brix, según la norma NTC 4624; actividad de agua (Aw) con 4 repeticiones, en un higrómetro de punto de rocío (AquaLab serie 3 TE, marca Decagón, con punto de sensibilidad de 0,001); infrarrojo (FT IR) en equipo (Thermo Nicolet, Avatar 370), a la muestra vegetal pulverizada antes de la hidrólisis, y después al bagazo producto del filtrado; Termogravimetría (TGA), en analizador termogravimétrico (Netzsch, modelo TG 209 F1).

3.3. Hidrólisis del sustrato

Permite remover la lignina y la hemicelulosa, disminuyendo la cristalinidad de la celulosa y aumentando la porosidad del material, lo que conlleva a la exposición de azúcares fermentables disponibles para los microorganismos en procesos fermentativos.

En el presente estudio se efectuaron dos tipos de hidrólisis que permitieron establecer las mejores condiciones para el sustrato a fermentar.

En la hidrólisis ácida se utilizó como catalizador H_2SO_4 buscando romper las cadenas de polisacáridos (celulosa y hemicelulosa), que forman las paredes de las hojas en el *Eucalypto camaldulensis* en sus monómeros elementales, según la metodología reportada por I.S.M. Rafiqul et al, 2013.

Se utilizaron 20g de material vegetal en 100mL de solución al 2% (v/v) de H_2SO_4 con reflujo por 1h y 30min a 120°C, se dejó enfriar a temperatura ambiente, se añadió $CaCO_3$ ajustando el pH a 5, se filtró y centrifugó para eliminar residuos tóxicos y precipitar sólidos, en un equipo Indulab Ref. 035 y 3000rpm.

El hidrolizado centrifugado se detoxificó adicionando 2g de carbón activado por cada 100mL de hidrolizado por 20min a 30°C, tomando una muestra para cuantificar azúcares reductores y sólidos solubles.

La hidrólisis por ultrasonido se efectuó en un equipo Branson, modelo 3510R-MT, utilizando 2 muestras diferentes de material vegetal, evaluando condiciones de pH y °Brix en función del tiempo.

Se utilizaron 20g de cada muestra en 100mL de agua desionizada, las muestras se sonicaron por 30min y 60min respectivamente, se filtraron y fueron sometidas al análisis fisicoquímico correspondiente.

3.4. Caracterización fisicoquímica del hidrolizado

Se hicieron análisis de pH por potenciometría, según la NTC 4592; acidez titulable con solución patrón de NaOH 0,1N según la NTC 4623; azúcares reductores por DNS y absorbancia a 540nm en espectrofotómetro UV VIS (Hewlett packard, modelo 8453); sólidos solubles totales por refractometría en un equipo (Mettler Toledo 30PX, intervalo de 0-85 °Brix), según la NTC 4624.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

B. Tratamiento del material vegetal

1. Porcentaje De Humedad (%h)

Es un parámetro muy importante en caracterización de material vegetal, porque permite determinar la cantidad de agua en una muestra vegetal y con ello predecir la actividad microbiana [9].

Los valores de humedad se determinaron por pérdida de masa en la muestra en horno de recirculación de aire a 40 °C, por tiempos de 24, 48 y 72 horas, obteniendo los siguientes resultados.

TABLA II
MASA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO

Tiempo de secado en horas	Masa (g)
0	218,52
24	148,92
48	147,94
72	147,16

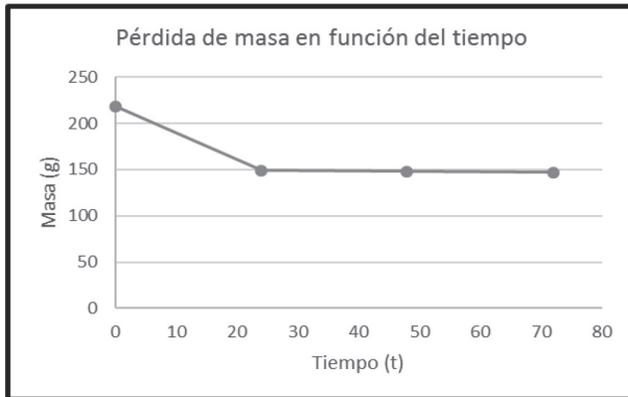


Fig. 1. Masa en función del tiempo.

La figura anterior muestra que la cantidad de masa no presentó variaciones significativas entre las 24 y 72 horas, lo que se traduce en que la pérdida de masa en la muestra es mínima en este tiempo, concluyendo que con 24 horas de secado de la muestra vegetal se logra la remoción completa del agua libre, quedando un porcentaje de humedad correspondiente al agua ligada que hace parte de los compuestos estructurales.

El porcentaje de humedad en la muestra de eucalipto se determinó utilizando la siguiente expresión matemática reportada en la literatura [10,11].

$$\%h = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100 \quad (1)$$

Donde:

h es la humedad, W_i el peso inicial y W_f es el peso final.

Se determinó que el porcentaje de agua en la muestra vegetal fue de 32,65%, demostrando que es apto como sustrato en la producción de xilitol, sin verse afectado por la actividad microbiana antes de la fermentación [12].

2. Caracterización fisicoquímica del material vegetal

2.1. Actividad de agua (A_w)

Corresponde al agua disponible para que los microorganismos desarrollen las actividades metabólicas; la escala que permite establecer este parámetro se encuentra entre 0 y 1; valores por debajo de 0,6 son indicativos de la no contaminación de la muestra por microorganismos [13].

En el laboratorio de investigación y diseño de nuevos productos de la Universidad del Quindío y utilizando un

higrómetro de punto de rocío a 24°C, se realizó el análisis correspondiente, obteniendo un valor promedio de 0,518, con una desviación estándar de $1,29 \cdot 10^{-3}$ y coeficiente de variación de 0,24, que demuestra poca variabilidad en los datos; el valor promedio indica que la muestra vegetal es apta para análisis posteriores sin verse afectada por la actividad microbiana.

TABLA III
VALORES DE ACTIVIDAD DE AGUA DE LA MUESTRA VEGETAL

Análisis	Actividad de agua (A_w)	Temperatura (°C)
1	0,518	24,8
2	0,517	24,8
3	0,518	25,0
4	0,520	25,0
Promedio	0,518	
D. estándar	$1,29 \cdot 10^{-3}$	

2.2. Grados Brix (°Brix)

Los grados Brix indican la cantidad de sólidos solubles en una muestra vegetal, que permiten determinar la viabilidad del sustrato como materia prima en procesos fermentativos con microorganismos.

Los análisis se llevaron a cabo utilizando un refractómetro portátil, con 4 repeticiones, como lo muestra la tabla IV.

TABLA IV
GRADOS BRX EN *EUCALIPTO CAMALDULENSIS*

Análisis	Índice De Refracción	Grados Brix
1	1,338	4,00
2	1,337	3,00
3	1,338	4,00
4	1,338	4,00
Promedio		3,75

De acuerdo con los datos obtenidos se determinó en promedio un 3,75% de sólidos solubles totales por cada 100g de muestra, esto quiere decir que hay 3,75g de azúcares por 96,25g de agua.

Con el análisis realizado se determina que es necesario llevar a cabo un pretratamiento buscando mejorar la cantidad de sólidos disueltos por la disponibilidad de los azúcares en el medio.

2.3. Infrarrojo (IR-FT)

Una vez aislada y purificada la sustancia, se midió el espectro infrarrojo en un equipo (FT IR) hermo Nicolet, Avatar 370), tal como se muestra en la Fig. 2,

El espectro de infrarrojo muestra a los 3422 cm^{-1} una banda ancha propia de grupos hidroxilo (-OH), que exhiben absorción en infrarrojo (vibración por alargamiento en $3000 - 3700 \text{ cm}^{-1}$) [7].

2.4. Termogravimetría (TGA).

El análisis termogravimétrico del *Eucalipto camaldulensis* se hizo buscando determinar el comportamiento de la masa en función del tiempo y la temperatura.

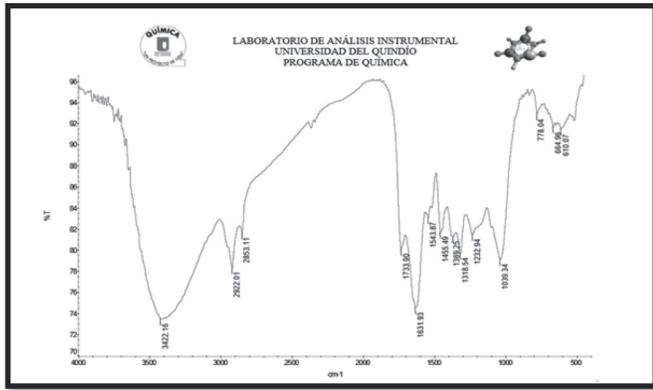


Fig. 2. Espectro Infrarrojo, muestra vegetal de *Eucalypto camaldulensis*.

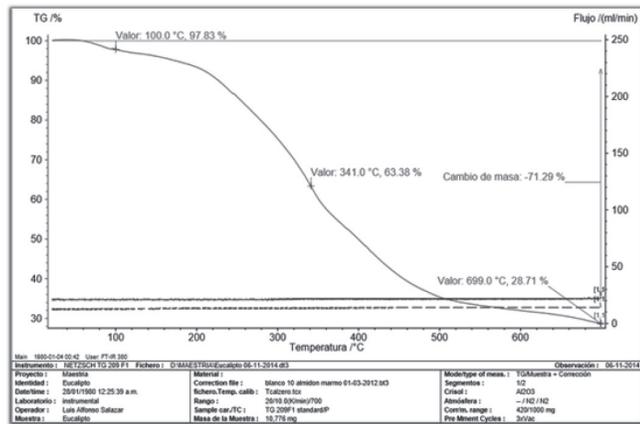


Fig. 3. Análisis termogravimétrico (TGA) de *Eucalypto camaldulensis* (masa en función de la temperatura).

La curva primaria de la Fig. 3 representa el cambio porcentual de masa del material vegetal, con relación al aumento en la temperatura.

Se observa que a 100°C todavía se mantiene un 97,83% de muestra, hasta ese momento la pérdida de masa corresponde al agua libre que contiene; a 341°C se mantiene un 63,38% de masa y a 699 °C un 28,71% de masa, demostrando ser un material estable térmicamente para ser usado a nivel de laboratorio y como materia prima en procesos industriales.

2. Caracterización Fisicoquímica de los Hidrolizados

De acuerdo con los datos obtenidos en la caracterización fisicoquímica del material vegetal, se hizo necesaria la aplicación de pretratamientos, buscando romper la pared vegetal de la muestra dejando expuestos los azúcares fermentables.

Los hidrolizados obtenidos por ultrasonido y por hidrólisis ácida se sometieron a análisis fisicoquímicos, que permitieron evaluar cuál de los dos procedimientos es el más adecuado para la conversión de D-xilosa en xilitol por fermentación.

3.1. Acidez Titulable y pH.

La acidez titulable corresponde a la cantidad de ácido presente en una solución determinada, para la titulación se utilizó una solución patrón de hidróxido de sodio 0,1 N, de acuerdo con la siguiente expresión:

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \quad (2)$$

Dónde:

C1 y C2 corresponden a la concentración inicial y final respectivamente, en # equivalentes/litro, V1 y V2 corresponden al volumen inicial y final respectivamente en litros.

Se efectuaron 3 ensayos con 3 ml de muestra y se procedió a titular con hidróxido de sodio 0.1 N hasta alcanzar el punto de neutralización, utilizando como instrumento el potenciómetro.

El procedimiento se efectuó tanto en el hidrolizado por ultrasonido como en el realizado por vía ácida; para medir el pH de cada uno de los hidrolizados se hizo directamente con el pH-metro y se registraron los valores.

2.1. Acidez titulable y pH del hidrolizado por ultrasonido

La acidez titulable fue de 0.0166N, teniendo en cuenta la concentración del ácido en el punto de neutralización.

Utilizando el pH-metro se obtuvo un pH de 5.07 en el hidrolizado, que indica que es un medio adecuado para el crecimiento y desarrollo metabólico de las levaduras [12. 14].

Acidez titulable y pH del hidrolizado vía ácida

TABLA V
ACIDEZ TITULABLE POR HIDRÓLISIS ÁCIDA

Solución	mL de NaOH adicionados	pH	Concentración (N)
1	8,2	8,81	0,2733
2	8,0	7,10	0,2666
3	7,9	7,04	0,2633

La acidez titulable fue de 0,2633N, teniendo en cuenta la concentración del ácido en el punto de neutralización.

El pH del hidrolizado fue de 1,38, demostrando ser un medio poco apto para el desarrollo metabólico de los microorganismos a utilizar en la fermentación.

De los resultados anteriores se concluye sobre la importancia de detoxificar y clarificar el sustrato cuando se aplica hidrólisis ácida, ya que el pH tan bajo puede estar relacionado con la presencia de contaminantes en el medio propios de la reacción.

Comparando los valores obtenidos en términos de acidez y pH en ambos hidrolizados, se concluye que la hidrólisis por ultrasonido es un pretratamiento adecuado para ser usado en la producción de xilitol vía fermentativa, en comparación con la hidrólisis ácida que necesita de procedimientos como detoxificación y clarificación adicional para mejorar las condiciones y volverlo apto, lo que conlleva a contaminación por subproductos, gasto de energía, tiempo y reactivos.

2.2. Grados Brix

La determinación de sólidos solubles se efectuó tanto al hidrolizado por ultrasonido como al hidrolizado vía ácida,

obteniendo los resultados que a continuación se relacionan en la tabla VI.

TABLA VI
SÓLIDOS SOLUBLES PARA LOS HIDROLIZADOS DE *EUCALIPTO*
CAMALDULENSIS

Ensayos	Determinación de sólidos solubles (°Brix)		
	Hidrolizado por ultrasonido		Hidrolizado vía ácida
	30 min	60 min	
1	5,1	5,1	7,5
2	5,3	5,4	5,9
3	6,0	5,9	5,2
Promedio	5,5	5,5	6,2

Teniendo en cuenta que los sólidos solubles se determinaron para el hidrolizado por ultrasonido a los 30min y a los 60min, buscando determinar la influencia del tiempo en el procedimiento, se puede observar que dicha variable no es determinante en la obtención de azúcares fermentables, ya que no hay diferencias en los valores promedio obtenidos, consistente con los resultados reportados por Kim, J.H., et al. 2002 [15].

Aunque los resultados obtenidos para el hidrolizado vía ácida son superiores a los obtenidos en el hidrolizado por ultrasonido, estos caen drásticamente al realizar el proceso de detoxificación, centrifugación y clarificación, llegando a un valor de 3,5, que es muy pequeño si se compara con la hidrólisis por ultrasonido.

3. Determinación de azúcares reductores (DNS)

Método que se basa en la oxidación del grupo aldehído o cetona presente en carbohidratos, para el caso específico la D-xilosa, y la respectiva reducción del DNS a ácido 3-amino-5-nitrosalísílico.

Ambos hidrolizados fueron sometidos a determinación de azúcares reductores utilizando el método de DNS con 5 repeticiones, obteniendo en promedio los valores que aparecen en la tabla VII.

TABLA VII
CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN HIDROLIZADOS

Muestra	Concentración de azúcares reductores (mg/mL)
Hidrolizado por ultrasonido	1054,42
Hidrolizado vía ácida	305,67

El análisis de azúcares reductores muestra que la hidrólisis por ultrasonido es un método apto para obtener azúcares fermentables, en comparación con la hidrólisis ácida, en donde la concentración de azúcares se ve claramente afectada

por la presencia de contaminantes, haciéndose necesarios procesos adicionales para buscar mejorar el rendimiento.

A diferentes concentraciones los azúcares reductores presentes en los hidrolizados, presentan la mayor actividad óptica en una longitud de onda de 540 nm estando acorde con los datos suministrados por la literatura.

Con el método de DNS se puede determinar la concentración de azúcares reductores a partir de una curva de calibración elaborada con una solución patrón de D-xilosa.

4.1. Espectro infrarrojo de los hidrolizados

Los espectros de las figuras 4 y 5, muestran que el proceso de hidrólisis ya sea ácida o por ultrasonido, no afectan la presencia de grupos hidroxilo propio de azúcares, generando una banda ancha de absorción en los 3400 cm^{-1} aproximadamente. Cabe mencionar que también absorbe el enlace H-O del agua dado que es un hidrolizado, en la cual la muestra preparada para el IR, cumplió con condiciones que eliminan las interferencias por humedad.

De acuerdo con los resultados se puede observar que el ultrasonido es una técnica adecuada para hidrolizar el material lignocelulósico (*Eucalipto camaldulensis*), puesto que, la presencia de sólidos disueltos es mayor que en la hidrólisis ácida, que se ve afectada por procesos de purificación de subproductos propios de la reacción, que podrían inhibir el proceso metabólico de los microorganismos durante la fermentación [16].

Inicialmente la hidrólisis ácida generó mejores resultados en este parámetro, como se observa en la tabla correspondiente, pero al realizar el proceso de detoxificación y clarificación, el valor de grados Brix cae drásticamente, permitiendo determinar la influencia negativa de los procesos de purificación y clarificación en cuanto a la disponibilidad de sólidos disueltos.

La determinación de azúcares reductores (DNS) para los dos tratamientos no muestra diferencias significativas, ya que en ambos casos se muestra actividad óptica a 540nm, que es indicativo de presencia de azúcares.

El espectro de infrarrojo, antes y después de la hidrólisis, no muestra diferencias significativas en cuanto a las bandas de absorción, lo que significa que ninguno de los dos tratamientos afecta la presencia de grupos hidroxilo (OH),

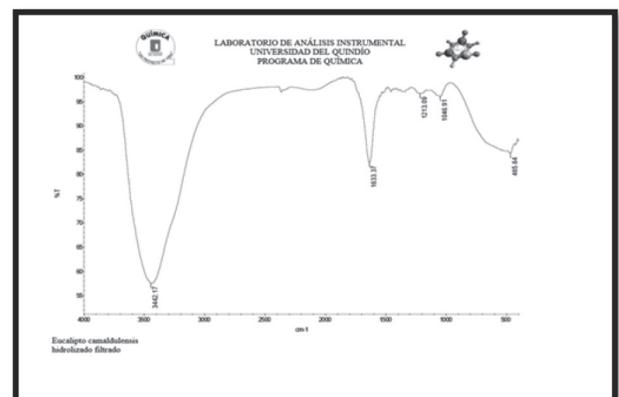


Fig. 4. Espectro infrarrojo para hidrolizado por ultrasonido

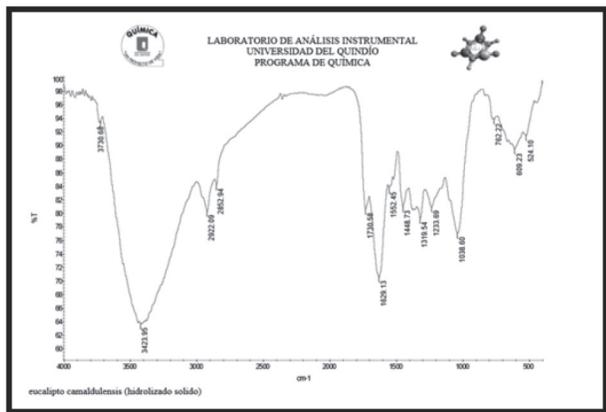


Fig. 5. Espectro infrarrojo para hidrolizado vía ácida

que son propios de azúcares.

El valor de pH en la hidrólisis por ultrasonido se ajusta a los valores óptimos para que los microorganismos puedan desarrollar de la mejor manera sus procesos metabólicos a lo largo de la fermentación.

En la hidrólisis ácida se ve claramente la influencia negativa de los subproductos generados durante la reacción en términos de pH; haciendo indispensable la etapa de purificación, buscando eliminar contaminantes y con ello ajustando el pH a valores adecuados para la fermentación

V CONCLUSIONES

La determinación de parámetros fisicoquímicos como sólidos solubles y azúcares reductores es fundamental en la valoración del sustrato como materia prima en procesos biotecnológicos.

El ultrasonido es una técnica novedosa en este campo, que se puede utilizar como pretratamiento en la producción de xilitol a partir de material lignocelulósico.

La actividad de agua registrada por el material vegetal, muestra que es un sustrato apto para procesos químicos y biológicos, por su estabilidad microbiológica.

El porcentaje de humedad final se logra a las 24 horas a una temperatura de 40°C, permitiendo ahorrar tiempo y energía, valiosos en procesos investigativos.

La muestra de *Eucalypto camaldulensis* demostró ser termoestable por análisis termogravimétrico, favoreciendo su uso en la industria.

La hidrólisis por ultrasonido mostró efectividad utilizando 30 minutos, ya que, a tiempos mayores, las diferencias en cuanto a caracterización fisicoquímica no son significativas, permitiendo menos gasto energético y agilidad en los procesos.

En la búsqueda de desarrollar procesos físicos, químicos y/o biológicos amigables con el medio ambiente, el ultrasonido se convierte en una buena alternativa por la no utilización de sustancias tóxicas generadoras de contaminantes difíciles de extraer, convirtiéndose en determinantes en el éxito de la fermentación por microorganismos.

REFERENCIAS

[1] Alonso, J.R. (2010). Edulcorantes Naturales. *La Granja*, 12(2), 3-12

- [2] MECAS. (2012)04 – Alternative Sweeteners in a high sugar price environment. International sugar organization.
- [3] Qunyi T., Qian X. & Loong-T. (2012). Effects of glycerol, sorbitol, xylitol and fructose plasticisers on mechanical and moisture barrier properties of pullulan–alginate–carboxymethylcellulose blend films. *International Journal of Food Science and Technology*. 38 (2) pp.1-9
- [4] Nielsen, S. S. (2011). *Food Analysis Laboratory Manual*. Editorial Springer. London. pp 35-43.
- [5] Rafiqul, I. S. M., & Sakinah, A. M. M. (2013). Processes for the Production of Xylitol. *Food Reviews International*, 29 (2) pp. 127-156.
- [6] Rouessac, F., & Rouessac, A. (2007). *Chemical Analysis*. 2nd ed. West Sussex: Wiley
- [7] Gondim, A. Lys M. (2003). Aplicaciones del Xilitol en otorrinolaringología. *IV Manual de otorrinopediatría da IAPO*.
- [8] Mussato, S. I., & Roberto, I. C. (2004). Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. *Revista Brasileira de Ciências Farmacéuticas*, 38(4), 401-413.
- [9] Sánchez, M. (s.f.). Experiencia Argentina en el uso de la madera de Eucalypto. Seminário Internacional de Utilização da Madeira de Eucalypto para Serraria. (1995), Sao Paulo. pp. 1-18.
- [10] Vanegas, I. A., Yepes, M., & Ruiz, O. S. (2004). Producción de xilitol a partir de levaduras nativas. *Revista colombiana de biotecnología*, (6), 31-36.
- [11] Organización Internacional del Azúcar. (2012). Edulcorantes alternativos en un contexto de altos precios del azúcar. *Organización Internacional del Azúcar, MECAS* (12) pp.4-12.
- [12] Santos, E., Cancino, N., Yenque, J., Ramírez D., & Palomino, M. (2005). El ultrasonido y su aplicación. *Revista de la facultad de ingeniería industrial (UNMSM)*, (8), 25-28.
- [13] Uribe, A. (2007). Caracterización fisiológica de levaduras aisladas de la filofera de mora. (Tesis de pregrado). *Universidad Javeriana*, Bogotá, Colombia.
- [14] Cuervo, L., Folch, J. L., & Quiroz, R. E. (2009) Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol. *Revista Mexicana de Biotecnología*, 13(3), 11-25.
- [15] Kim, J. H., Han, K. C., Koh, Y. H., Ryu, Y. W., & Seo, J. H. (2002). Optimization of fed-batch fermentation for xilitol production by candida tropicalis. *Journal of industrial Microbiology & Biotechnology* (29), 16-19.
- [16] Saval, S. (2012). Aprovechamiento de residuos agroindustriales: Pasado, presente y futuro. *Biotecnología*, (16), 14 - 46

Alexander Gutiérrez es Licenciado en Biología y Química de la Universidad de Caldas, Magister en Química de la Universidad de Caldas. Actualmente se desempeña como Rector de la institución educativa Colegio Cooperativo de Pereira. Ha realizado trabajos de investigación en el área de la Química y Enseñanza de las Ciencias Exactas y Naturales

Henry Reyes Pineda es ingeniero Químico egresado de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales con Especialización en Educación Ambiental, Especialización en Ingeniería Electroquímica y Corrosión, Diploma de Estudios Avanzados en Tecnologías de Membranas, Electroquímica y medio Ambiente Seguridad Nuclear y con un Doctorado en Ingeniería Química y Nuclear de la Universidad Politécnica de Valencia, España.

Actualmente es profesor de tiempo completo de la Universidad del Quindío, Armenia, Colombia y Decano de la Facultad de Ciencias Agroindustriales; hace parte del Grupo Químico en Investigación y Desarrollo Ambiental.

Ha sido docente de la Universidad de Caldas, Universidad Nacional, Universidad Católica de Pereira y Universidad Autónoma de Manizales. Entre sus áreas de trabajo investigativo se encuentran la Ingeniería Electroquímica, Los Procesos ambientales, el tratamiento de residuos sólidos y líquidos, el diseño de reactores, entre otros.

El Doctor Reyes Pineda, se graduó en el 2007, obteniendo la máxima calificación en su Tesis Doctoral: "Cum Laude". Ha sido profesor visitante en tres oportunidades a la Universidad Politécnica de Valencia, España y en dos ocasiones en la Universidad de Santa Cruz del Sur, Brasil, desarrollando actividades académicas e investigativas. Igualmente ha participado como conferencista en diferentes congresos nacionales e internacionales

Jhon Fredy Castañeda es Licenciado en Química de la Universidad de Caldas, Magister en Ciencias Química de la Universidad del Valle y tiene un doctorado en Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma Nacional de México, UNAM. Ha sido docente de la Universidad de Caldas, docente ocasional tiempo completo de la Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías en la Universidad del Quindío y actualmente es docente de planta tiempo completo en la Universidad Sur Colombiana, en Neiva. Ha trabajado en síntesis y análisis de productos naturales.