

# PRODUCCIÓN DE XILITOL A PARTIR DE CASCARILLA DE ARROZ UTILIZANDO *Candida guilliermondii*

## XYLITOL PRODUCTION FROM RICE HUSK USING *Candida guilliermondii*

Marcela Villalba Cadavid<sup>1</sup>; Tatiana Vélez Uribe<sup>2</sup>; Mario Arias Zabala<sup>3</sup> y Guillermo Arrázola Paternina<sup>4</sup>

**Resumen.** En este estudio se empleó cascarilla de arroz como materia prima para la obtención de xilitol, previa hidrólisis durante 60 minutos con ácido sulfúrico al 4% p/v; a 121 °C y 15 psig.; La xilosa producida se transformó en xilitol mediante su fermentación con *Candida guilliermondii*. Se estudió el efecto de las variables concentración inicial de xilosa, concentración de inóculo y relación volumen del medio/volumen del matraz, así como sus efectos combinados, sobre la producción de xilitol. Se encontró que las concentraciones iniciales de xilosa e inóculo más adecuadas, entre los valores ensayados, fueron 80 y 5,0 g/l, respectivamente. En estas condiciones, la concentración final de xilitol obtenida fue de 45,2 g/l, con una productividad volumétrica de 0,23 g/l•h y un rendimiento de 0,57 g/g.

**Palabras claves:** Cascarilla de arroz, hidrólisis ácida, xilosa, xilitol, *Candida guilliermondii*.

**Abstract.** In this study was used rice husk, previously hydrolyzed with diluted sulfuric acid at 121 °C and 15 psig, with a residence time 60 min. The initial concentration of substrate, inoculum, and relationship between media volume/flask volume and their combined effects were studied on the production of xylitol. The initial concentrations of 80 g/l xylose and 5 g/l inoculums led the best xylitol production (45.2 g/l), productivity (0.23 g/l•h) and yield (0.57 g/g).

**Key words:** Husk rice, acid hydrolysis, xylose, xylitol, *Candida guilliermondii*.

Actualmente existe una gran variedad de residuos agroindustriales como el bagazo de caña, fibra de maíz, paja y cascarilla de arroz, entre otros, que son susceptibles de ser utilizados como materia prima en diversos procesos fermentativos, por su naturaleza lignocelulósica, resultando, además, ventajoso su uso por ser una fuente abundante y de bajo costo en el mercado. Además del valor económico de los productos obtenidos, estos procesos son parte del tratamiento para un mejor manejo ambiental de estos residuos.

En Colombia, el área cultivada de arroz (*Oriza sativa* L.) se ha estimado en unas 435.153 ha, con una producción aproximada de 2.145.100 toneladas de arroz paddy seco (FEDEARROZ, 2006), lo que genera 578.452 toneladas de desecho industrial (cascarilla). Este subproducto, por sus características fisicoquímicas, resulta poco digerible convirtiéndose en un desecho altamente contaminante. Su peso y volumen generan altos costos de almacenamiento

y transporte para la industria arrocera; además, la cascarilla de arroz, debido a su bajo valor proteico y baja digestibilidad, posee un aprovechamiento limitado para la alimentación animal (Martínez *et al.*, 2002). Las estimaciones señalan que de la cascarilla producida en el país queda sin emplear una tercera parte, convirtiendo a este subproducto en un inconveniente para el productor, si bien una parte puede ser utilizado en la elaboración de combustibles líquidos y en la generación de energía aunque con baja eficiencia (Kadam *et al.*, 2000), anualmente se acumula grandes cantidades de cascarilla de arroz, ocasionando problemas de contaminación ambiental y pérdidas de fuentes potenciales de productos con valor agregado, como el xilitol.

La cascarilla de arroz posee una composición aproximada de 43,5% de celulosa, 22% de hemicelulosa y 17,2% de lignina (Roberto *et al.*, 2003), además de un alto contenido de pentosanos. Aprovechando estas características, se puede realizar

<sup>1</sup> Ingeniera de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias. A.A. 1027, Medellín, Colombia. <mivillal@unal.edu.co>

<sup>2</sup> Ingeniera Biológica. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias. A.A. 1027, Medellín, Colombia. <ltvelez@unalmed.edu.co>

<sup>3</sup> Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias. A.A. 1027, Medellín, Colombia. <marioari@unal.edu.co>

<sup>4</sup> Profesor Titular. Universidad de Córdoba. Facultad de Ciencias Agrícolas. Ciudadela Universitaria Carrera 6 No.76 - 103, Montería, Colombia. <Guillermo.arrazola@ua.es>

Recibido: Octubre 3 de 2008; Aceptado: Marzo 10 de 2009

Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín 62(1): 4897-4905. 2009

una hidrólisis suave utilizando ácidos diluidos, degradándose la hemicelulosa y dejando el resto del material lignocelulósico inalterado; el producto de esta hidrólisis es un caldo rico en xilosa el cual, aplicando técnicas de fermentación y purificándolo con resinas de intercambio iónico o carbón activado, se puede utilizar para la obtención de xilitol (Silva y Roberto, 2001).

El xilitol es un alcohol pentahidroxilado que posee gran interés comercial debido a sus propiedades físico-químicas que facilitan su uso en las industrias alimenticia, farmacéutica y odontológica (Emodi, 1978). Presenta propiedades anticariogénicas por el hecho de no ser utilizado por los microorganismos de la flora bucal, lo que evita la formación de ácidos que atacan el esmalte dental, lo cual es muy importante para una buena salud oral (Winkelhausen y Kuzmanova, 1998).

En Colombia no se conocen investigaciones sobre la producción de xilitol a partir de la cascarilla de arroz; sin embargo, se han encontrado cepas nativas de levaduras aisladas de diferentes fuentes, con capacidad para producir xilitol (Vanegas, 2004).

En esta investigación se estudió la obtención de xilitol vía biotecnológica a partir de la cascarilla de arroz por fermentación con levaduras nativas de la especie *Candida guilliermondii*, utilizando como medio de cultivo la cascarilla de arroz hidrolizada con ácido sulfúrico diluido, a escala de matraz agitado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Preparación y tratamiento del hidrolizado hemicelulósico.** La cascarilla de arroz fue obtenida de plantas procesadoras de arroz del municipio de Montería, Córdoba-Colombia, en las condiciones como normalmente es desechada por los productores. Se recolectaron muestras de cascarilla de 5 kg en bolsas plásticas, selladas para su posterior transporte al laboratorio de bioconversiones de la Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín. La cascarilla fue sometida a molienda y tamizado para obtener un tamaño de partícula de 0,5-1 mm. Para lograr el hidrolizado hemicelulósico, las partículas de cascarilla fueron sometidas a hidrólisis ácida con  $H_2SO_4$  al 4% (p/v) bajo las siguientes condiciones: en autoclave durante 60 min a 121 °C, 15 psig y relación sólido-líquido de 1:10 (p/v) de cascarilla: solución de ácido sulfúrico. El tiempo de hidrólisis fue medido luego de

que se alcanzaran las condiciones de temperatura y presión. Al finalizar la hidrólisis, se enfrió rápidamente el hidrolizado en una cubeta con hielo y posteriormente se removió el residuo sólido por filtración. El hidrolizado (sobrenadante) fue concentrado en un rota-evaporador al vacío por calentamiento a  $50 \pm 2$  °C hasta obtener un contenido de xilosa de aproximadamente 80 g/l. El hidrolizado concentrado fue destoxificado por sobre-titulación con  $Ca(OH)_2$  y  $H_2SO_4$  concentrado (Alves *et al.*, 1998) y clarificado con carbón activado (2,4%, p/v) a 200 rpm y 30 °C durante 1 hora para eliminar los compuestos tóxicos formados durante la hidrólisis ácida.

**Microorganismo y preparación del inóculo.** El microorganismo utilizado fue la levadura *Candida guilliermondii*, suministrada por el banco de cepas del Colegio Mayor de Antioquía (Medellín). La cepa fue mantenida en agar PDA (Potato Dextrose Agar), La levadura fue sembrada directamente en el agar y se incubó a 30 °C por 48 horas. Las colonias de levadura se sembraron por el método de agotamiento y estrías en agar PDA mediante repiques sucesivos.

Las células previamente aclimatadas al hidrolizado fueron inoculadas en un medio de cultivo preparado con el hidrolizado (30 g/l de xilosa) y suplementado con 20 g/l de extracto de salvado de arroz, 3 g/l  $(NH_4)_2SO_4$  y 0.1 g/l  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ . El extracto de salvado de arroz usado como fuente de vitaminas y aminoácidos fue preparado según Silva *et al.* (2006). El inóculo fue crecido por 36 horas en un erlenmeyer de 250 ml que contenían 100 ml de medio, en un agitador orbital a 30 °C y 200 rpm. Las células fueron recuperadas por centrifugación a 2000 g por 15 minutos y resuspendidas en agua estéril.

**Condiciones de fermentación.** El medio de fermentación fue preparado con el hidrolizado concentrado, ajustado a las concentraciones iniciales de xilosa con agua destilada estéril, con la adición de 20 g/l de extracto de salvado de arroz, 3 g/l  $(NH_4)_2SO_4$  y 0,1 g/l  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , como suplemento. Los experimentos fueron realizados por duplicado, utilizando matraces erlenmeyer de 100 ml conteniendo 45 y 26 ml de volumen de medio, con el fin de simular diferentes condiciones de aireación, clasificando los niveles de medio como semi-aireado y aireado, respectivamente, de acuerdo a la relación volumétrica que se establece entre el volumen del medio de cultivo/volumen del matraz, según Walther *et al.* (2001). Todas las fermentaciones se llevaron a

cabo en un agitador orbital a 30 °C y 200 rpm; el pH del medio fue 5,8; la duración de la fermentación se estableció en relación al tiempo que tardó la cepa en consumir la totalidad del sustrato.

**Análisis y diseño experimental.** Se hizo un seguimiento de las corridas experimentales para determinar el consumo de sustrato y la producción de xilitol. Las concentraciones de xilosa y xilitol fueron determinadas por los kits enzimáticos para D-Xylose y Sorbitol/Xylitol de Megazyme® y las muestras fueron diluidas 1:100 para su lectura en el espectrofotómetro a 340 y 540 nm, respectivamente. La determinación de la concentración celular se realizó indirectamente por correlación entre el peso seco de las células y su absorbancia a 600 nm. Se realizó un diseño experimental con un arreglo factorial 3<sup>2</sup> de las variables de estudio (concentración de inóculo, concentración de sustrato y relación volumen del

medio/volumen del matraz) cada una con dos niveles, para 8 tratamientos. Los experimentos se realizaron con un diseño completamente al azar y un nivel de significancia de 0,05 (P<0,05).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra la matriz del diseño de las variables de estudio, usado para evaluar el tratamiento más adecuado en la producción de xilitol por fermentación con hidrolizado de cascarilla de arroz, y los resultados de los valores medios de las variables de respuesta:  $Q_p$ , productividad volumétrica;  $Y_{p/s}$ , rendimiento de xilitol a partir de xilosa;  $P$ , concentración final de xilitol;  $Y_{x/s}$ , rendimiento de biomasa a partir de xilosa. Estos resultados mostraron que *C. guilliermondii* fue capaz de producir xilitol bajo todos los tratamientos evaluados.

**Tabla 1.** Diseño experimental y resultados de la producción de xilitol a partir del hidrolizado de cascarilla de arroz por *Candida guilliermondii*.

Tratamiento	Variables de estudio			Resultados			
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$Q_p$ (g / l*h)	$Y_{p/s}$ (g/g)	$P$ (g/l)	$Y_{x/s}$ (g/g)
1	80	5	45	0,235859 a	0,57845 a	45,285 a	0,09168 c
2	50	5	45	0,193542 b	0,59247 a	27,87 c	0,09396 c
3	80	3,5	45	0,179676 b,c	0,49921 a	38,81 b	0,08768 c
4	50	3,5	45	0,143452 c,d,e	0,51288 a	24,1 c	0,10235 c
5	80	5	26	0,171771 b,c,d	0,34292 b	24,735 c	0,16699 b
6	50	5	26	0,113625 e	0,30906 b,c	13,635 d	0,21674 a,b
7	80	3,5	26	0,140565 d,e	0,31053 b,c	23,615 c	0,1742 b
8	50	3,5	26	0,062813 f	0,19219 c	9,045 d	0,25893 a

$X_1$ = concentración inicial de sustrato ( $S_0$ ),  $X_2$ = concentración de inóculo,  $X_3$ = volumen del medio (condiciones de aireación). Las medias con la misma letra no difieren entre sí al nivel de significancia del 5% por el test de Tukey.

Como puede notarse, el Tratamiento 1 presentó los mejores resultados de productividad volumétrica (0,23 g/L•h) y concentración de xilitol (45,2 g/L), mientras que el coeficiente de rendimiento de producto a partir de sustrato fue ligeramente bajo con respecto al Tratamiento 2, con 0,57 g/g y 0,59 g/g, respectivamente. Por otro lado, el Tratamiento 8 mostró los valores mínimos con un  $Q_p$  de 0,06 g/L•h, con una diferencia de 73,3% con respecto al Tratamiento 1. También la concentración de producto

final y el rendimiento a partir de xilosa fueron los más bajos con 9,04 g/l y 0,19 g/g, respectivamente. Entre los Tratamientos 1 y 8 la variación entre los valores máximo y mínimo de estas variables, corresponde a un incremento de 80% para la concentración final de xilitol, mientras que en los tratamientos 2 y 8 el coeficiente  $Y_{p/s}$  mostró un aumento de 67,7%. Esto confirma la influencia que tienen las diferentes combinaciones de las variables de estudio de los tratamientos, sobre la bioconversión de xilosa a

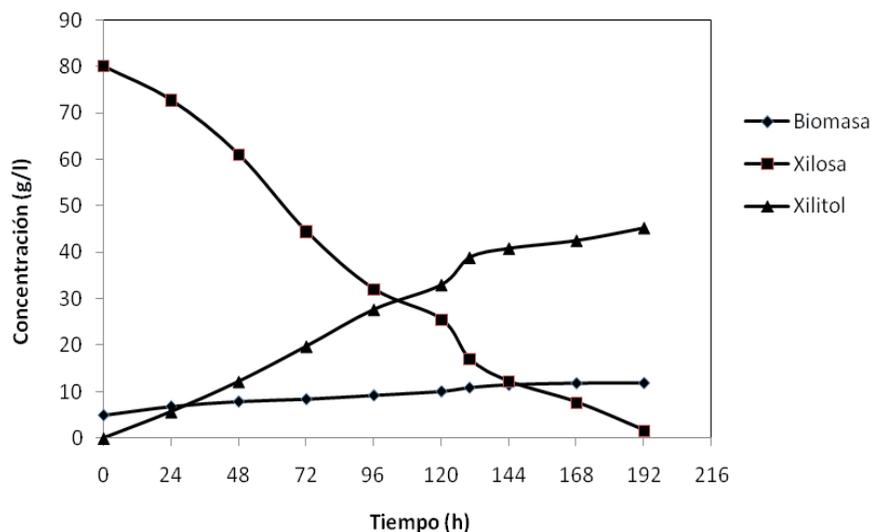
xilitol. El máximo valor del rendimiento de xilitol (0,59 g/g) fue obtenido para una concentración de sustrato de 50 g/l, y una concentración de inóculo 5 g/l en condiciones semiaerobias.

La acumulación de xilitol, en el medio de fermentación, empezó poco antes de las 24 horas y se mantuvo un aumento casi lineal hasta alcanzar una concentración final de 45,28 g/l pasadas las 192 horas (Figura 1). Este incremento en la producción de xilitol está asociado a la toma de xilosa, así como también a un ligero aumento de la biomasa. Se puede notar que a medida que se eleva la concentración celular, el xilitol producido va alcanzando mayores concentraciones, mostrando un patrón de comportamiento donde el producto está parcialmente asociado al crecimiento. Un patrón similar para el producto se apreció en la obtención de xilitol con hidrolizado de paja de arroz mencionado por Mussatto y Roberto (2004), contrario a lo encontrado por Sampaio *et al.* (2005), quienes consideran que la formación de xilitol podría

estar asociada al estado fisiológico de la levadura en una fase de la desaceleración de su crecimiento.

El coeficiente de rendimiento de xilitol con respecto a la masa celular ( $Y_{p/X}$ ) fue de 6,57 g/g indicando una buena eficiencia por parte de la levadura para convertir el sustrato en producto, pero no tan alta como la lograda por Silva y Roberto (2001), la cual fue un 19% mayor en hidrolizado de paja de arroz (90 g/l de xilosa) y 3,1 g/l de inóculo de *C. guilliermondii* FTI 20037, correspondiente a un  $Y_{p/X}$  de 8,02 g/g.

De Favari *et al.* (2004) encontraron que el tratamiento del hidrolizado de paja de arroz con 50 g/l de xilosa, 4,2 mg  $O_2/s$  de rata de flujo de oxígeno y 5 g/l de inóculo de *C. tropicalis* tuvo la mejor productividad volumétrica ( $Q_p = 0,70$  g/l•h) y rendimiento de xilitol ( $Y_{p/S} = 0,73$  g/g); pero la concentración de xilitol fue inaceptablemente baja (35,9 g/l) en estas condiciones. Sin embargo, el solo cambio en la concentración de xilosa a 150 g/l, incrementó la cantidad final de xilitol a 70,4 g/l.



**Figura 1.** Ensayo fermentativo de producción de xilitol del hidrolizado con volumen del medio,  $V_m = 45$  mL,  $80$  gL<sup>-1</sup> de xilosa y  $5,0$  gL<sup>-1</sup> de inóculo. Tratamiento 1.

En el análisis de varianza, los resultados de la prueba-F de los tratamientos (Tabla 2) para los parámetros de fermentación, revelaron que el modelo es estadísticamente significativo para todas las variables analizadas a un nivel de confianza del 95%. Los coeficientes de determinación del modelo,  $R^2$ , superiores a 0,97 para todas las variables, demuestran una buena correlación de las variables independientes. Teniendo en cuenta

que en anteriores investigaciones la cascarilla de arroz no ha sido empleada ni referenciada, no es posible establecer comparaciones cercanas relacionadas con el medio de cultivo principalmente; sin embargo, si se han tomado estudios encontrados en la literatura cuyas condiciones de operación y resultados pueden dar un estimado del potencial que tiene este proceso en particular.

**Tabla 2.** Análisis de varianza (ANOVA) de los tratamientos para productividad volumétrica ( $Q_p$ ), rendimiento de xilitol a partir de xilosa ( $Y_{p/s}$ ), concentración final de xilitol (P) y rendimiento de biomasa a partir de xilosa ( $Y_{x/s}$ ).

	Fuente	DF	MS	R <sup>2</sup>	Media	valor-F	P
$Q_p$	Modelo	7	0,0055616	0,98304	0,1551	66,27	<,0001
	Error	8	0,0000839				
$Y_{p/s}$	Modelo	7	0,0433781	0,97693	0,4172	48,41	<,0001
	Error	8	0,0008960				
P	Modelo	7	283,04729	0,99034	25,8868	117,28	<,0001
	Error	8	2,413481				
$Y_{x/s}$	Modelo	7	0,00853806	0,972418	0,149066	40,29	<,0001
	Error	8	0,00021191				

DF= grados de libertad, MS= cuadrado de la media, R<sup>2</sup>= R-cuadrado.

Con base en lo anterior, en el Tratamiento 2, los valores encontrados para el rendimiento de xilitol y de células a partir de sustrato fueron similares a los obtenidos previamente por Silva *et al.* (2006) en la fermentación del hidrolizado de paja de arroz por *C. guilliermondii* empleando una concentración de xilosa de 82,5 g/l, y una concentración inicial de inóculo de 3,1 g/l, mostrando de esta manera el efecto importante de altas concentraciones de inóculo sobre la producción de xilitol.

Los resultados de Silva y Roberto (2001), en fermentación de paja de arroz (48 g/l de xilosa y 3 g/l de inóculo *C. guilliermondii*), en cuanto a  $Y_{p/s}$  y P, fueron comparables también con los del Tratamiento 2; sin embargo, en las 47 horas de proceso, la productividad volumétrica fue mucho mayor (0,61 g/l•h), equivalente a un 68,8% por encima del obtenido en este estudio, donde el tiempo fue 144 horas. Los bajos niveles de componentes tóxicos del hidrolizado, así como la procedencia y manejo de la cepa, juegan un papel importante a favor de la actividad fermentativa del microorganismo y la bioconversión de xilosa a xilitol, contribuyendo a una rápida asimilación del sustrato y producción del metabolito de interés, reduciendo así los tiempos de corrida de los procesos. Además, de acuerdo con Preziosi-Belloy *et al.* (1997), los problemas causados por la combinación de estos compuestos en bajos niveles, es mayor que los inconvenientes originados por cada componente en particular, debido a su efecto sinérgico.

Con respecto a los rendimientos de biomasa a partir de sustrato, se obtuvieron los más altos en

los tratamientos cuyo volumen de medio fue 26 ml el cual proporciona unas condiciones aerobias al medio, de acuerdo con la clasificación de Nolleau *et al.* (1993), notándose durante las primeras etapas de la fermentación un incremento de la densidad celular. Contrario a las predicciones de Yahashi *et al.* (1996), las altas concentraciones celulares no resultaron en altas productividades y rendimientos de xilitol; en cambio, en general, hubo una disminución en el rendimiento relativo de xilitol a partir de xilosa.

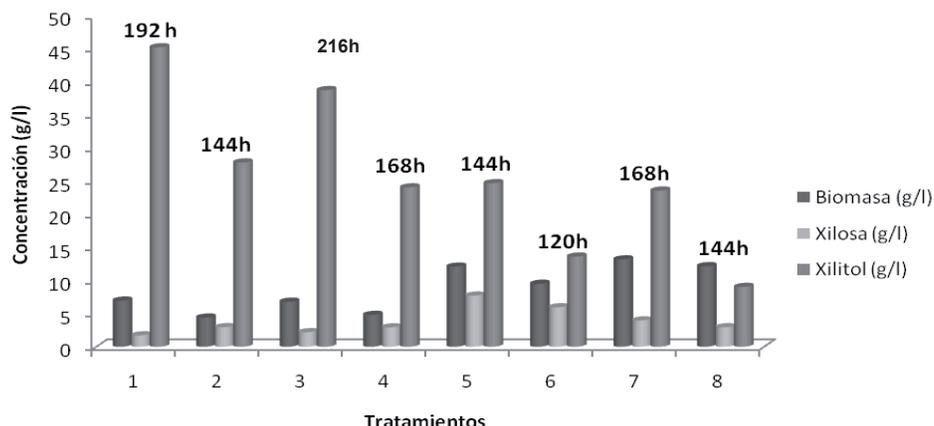
De acuerdo con los resultados de las fermentaciones, en la Figura 2 se muestran los valores finales de las concentraciones de las variables obtenidas en este estudio y el tiempo de duración de las fermentaciones en cada tratamiento. Se resalta que en el Tratamiento 8, la biomasa fue superior a la cantidad de xilitol alcanzada en la conversión de la xilosa. Además, los Tratamientos 4 y 5 tuvieron casi la misma concentración final de xilitol, teniendo en cuenta que estaban en distintas condiciones, el primero con menor sustrato y biomasa que el otro, y menor disponibilidad de oxígeno.

Las mayores concentraciones de producto se presentaron con las concentraciones más altas de xilosa. Estos resultados son interesantes, pues con el uso de altas concentraciones de sustrato se podría minimizar el tamaño del fermentador para una cantidad de producto dada, y al incrementarse la concentración de producto en el medio, la viabilidad económica del proceso de separación se incrementa (Silva *et al.*, 2006).

Walther *et al.* (2001) consideran que concentraciones extremadamente altas de sustrato podrían ir

en detrimento con los rendimientos de xilitol, atribuyendo esto al estrés osmótico, el cual podría ser inducido en el microorganismo por el exceso de azúcar en el medio. Mussatto y Roberto (2004), demostraron que al incrementar las concentraciones de azúcares

en el medio se aumentan proporcionalmente los compuestos tóxicos que, eventualmente sin un tratamiento de remoción y reducción adecuado, pondría en riesgo la viabilidad del microorganismo y el desarrollo de la fermentación.



**Figura 2.** Concentraciones medias finales de biomasa, xilosa y xilitol al tiempo final de las fermentaciones con el hidrolizado de cascarilla de arroz por *Candida guilliermondii*.

La Tabla 3 presenta el análisis de varianza obtenido para el modelo representativo de la productividad volumétrica de xilitol a partir de las variables de estudio, concentración inicial de xilosa ( $S_0$ ),

concentración inicial de inóculo ( $I_0$ ) y volumen de medio ( $V_m$ ). A un nivel de significancia de 5%, la concentración de xilosa inicial y el volumen del medio presentaron efectos significativos sobre  $Q_p$ .

**Tabla 3.** Análisis de varianza para productividad volumétrica de xilitol ( $Q_p$ ) a partir del hidrolizado de cascarilla de arroz por *Candida guilliermondii*.

	Fuente	DF	MS	R <sup>2</sup>	Media	valor-F	P
Q <sub>p</sub>	Modelo	7	0,0055616	0,98304	0,1551	66,27	<,0001
	Error	8	0,0000839				
	Xilosa	1	0,011496			136,98	<,0001
	Inóculo	1	0,008863			105,61	<,0001
	Vmedio	1	0,017391			207,23	<,0001
	Inoculo*Vmedio	1	0,000147			1,75	0,2221
	Xilosa*Inoculo	1	0,000045			0,54	0,4819
	Xilosa*Vmedio	1	0,000822			9,80	0,0140
	Xilosa*Inoculo*Vmedio	1	0,000165			1,97	0,1983
	Total	15	0,039602				

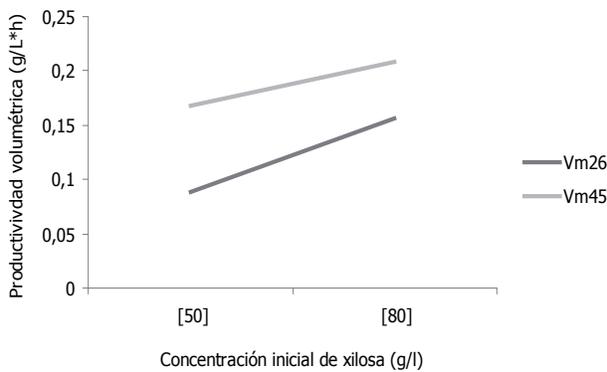
Como se puede observar de la Figura 3(A), el efecto mixto entre estas dos variables señala que las mejores productividades se obtienen operando el proceso con la mayor concentración de xilosa y volumen de 45 ml, tal como lo registra el resultado del Tratamiento 8 que cumple con esas condiciones. Así mismo, se determinó que para el rendimiento de xilitol y biomasa a partir

de sustrato la interacción de  $S_0$  con el volumen del medio ( $V_{med}$ ) tiene un efecto sobre estas variables.

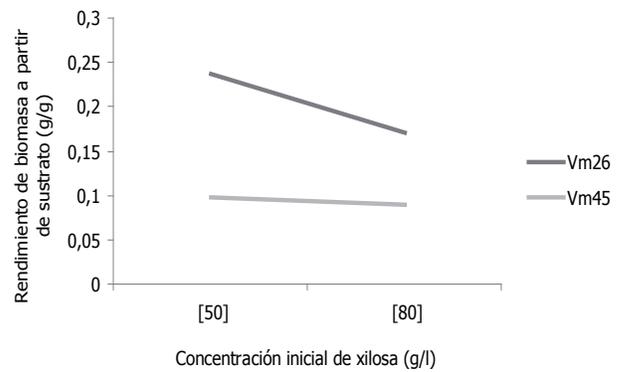
El efecto de la interacción entre el volumen del medio y la concentración inicial de sustrato sobre la conversión de sustrato en células se puede apreciar en la Figura 3(B). Con un volumen de medio de

45 ml (semiaerobio), los cambios en el rendimiento de biomasa tienen un margen de variación muy pequeño, independiente de la concentración de xilosa que se tenga en el medio. De Faveri *et al.* (2004), mencionan que condiciones semiaerobias, dadas por un suministro decreciente de oxígeno, afectan el crecimiento y la respiración celular y, por consiguiente, favorecen la formación de xilitol.

Acorde con la línea oscura de la Figura 3(B), que representa el efecto combinado entre el volumen de medio 26 ml (aerobio) y las concentraciones de sustrato, se observa una amplia diferencia en el resultado de la biomasa obtenida por la conversión del sustrato, correspondiente a un incremento del 28,2% cuando la xilosa inicial en el medio es de 50 g/l.



**A**



**B**

**Figura 3.** Valores de productividad volumétrica (A) y rendimiento de biomasa a partir de sustrato (B), debido al efecto combinado entre las variables S0 y Vmedio, en la obtención de xilitol a partir del hidrolizado de cascarilla de arroz por *Candida guilliermondii*.

El nivel de significancia ( $P < 0,05$ ) de la interacción positiva entre la concentración inicial de xilosa y el volumen del medio puede ser explicado en términos de la densidad celular (Horitsu *et al.*, 1992; Walther *et al.*, 2001). Es así como, a altas concentraciones iniciales de xilosa y alta aireación, las células crecen vigorosamente al inicio de la fermentación. Esto conduce a que en las primeras etapas del proceso haya altas densidades celulares y bajos niveles de oxígeno y luego en las posteriores etapas de la fermentación se den altas velocidades de producción sin aumentarse mucho el  $Y_{X/S}$ ; mientras que cuando al inicio hay bajas concentraciones de xilosa, la densidad celular permanece baja y el nivel de oxígeno disuelto sigue siendo alto; por tanto, se acumula menos xilitol en el medio y el coeficiente de rendimiento de biomasa crece.

En cuanto a la variable  $Y_{P/S}$  rendimiento de xilitol a partir de sustrato, que como se mencionó anteriormente estaba afectada por la interacción entre la concentración de sustrato inicial y el volumen del medio, se muestran en la Figura 4 los efectos de estas variables combinadas. Se observa que al inicio de la fermentación, para una misma cantidad de

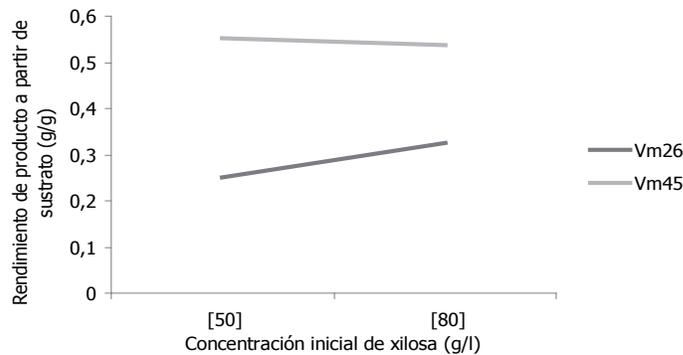
xilosa, la conversión de sustrato a xilitol disminuye en 40,4% para 80 g/l y en un 54,6% para 50 g/l cuando la aireación es mayor. De esto se deduce que las condiciones de aireación, afectaron los rendimientos de xilitol, teniendo en cuenta que las tasas altas de aireación favorecen la toma de xilosa y la división celular, mientras que las tasas bajas, favorecen el rendimiento de sustrato en producto (Carvalho *et al.*, 2003).

Con respecto a la variable P, concentración final de xilitol, se encontró que sí tiene efectos significativos de manera individual sobre la cantidad de xilitol producida en el medio. Por consiguiente, se realizó una comparación entre las medias de las variables para mirar el comportamiento sobre P (Tabla 4).

Estos resultados de la prueba de comparación de medias por el test de Tukey al nivel de significancia del 5%, ponen de manifiesto que las concentraciones de xilitol más altas al final del proceso fermentativo se alcanzaron con el inóculo y el contenido de sustrato mayor, en condiciones semiaerobias. Martínez *et al.* (2002) demostraron, en diferentes hidrolizados lignocelulósicos, que

la concentración de xilitol se comportó de igual forma, independientemente de la materia prima

utilizada, dando altos rendimientos y cantidades de xilitol donde eran mayores los contenidos de xilosa.



**Figura 4.** Valores de rendimiento de producto a partir de sustrato, debido al efecto combinado entre las variables  $S_0$  y  $V_{medio}$ , en la obtención de xilitol a partir del hidrolizado de cascarilla de arroz por *Candida guilliermondii*.

**Tabla 4.** Valores medios de las variables independientes del análisis de varianza homogéneas para la concentración final de xilitol, P (g/l), en la obtención de xilitol a partir del hidrolizado de cascarilla de arroz por *Candida guilliermondii*.

Variable de estudio	Niveles	A	B
Concentración inicial inóculo	5,0	27,8813	23,8925
	3,5		
Concentración inicial de sustrato	80	33,1113	18,6625
	50		
Volumen de medio	45	34,0163	17,7575
	26		

Finalmente, se pudo apreciar que las combinaciones resultantes del diseño experimental, brindaron bases para establecer comparaciones entre los procesos de fermentación y dejan espacio para buscar optimizar las mejores condiciones de operación en la producción de xilitol a partir de cascarilla de arroz con *C. guilliermondii*.

### CONCLUSIONES

La levadura *C. guilliermondii* fue capaz de producir xilitol, en diferentes cantidades, en todos los tratamientos evaluados al tener en cuenta que las variables que se estaban estudiando tienen una importante influencia en el proceso de obtención de xilitol, se demuestra que la levadura utilizada tiene un potencial prominente como productora de xilitol a partir del hidrolizado de la cascarilla de

arroz. Las condiciones de operación más adecuadas para llevar a cabo un proceso fermentativo con hidrolizado de cascarilla de arroz y *C. guilliermondii* fueron una concentración inicial de xilosa de 80 g/l, concentración de inóculo de 5,0 g/l y en medio semi-aireado. Las variables concentración inicial de sustrato y volumen de medio, tuvieron efecto combinado sobre los parámetros de fermentación: productividad volumétrica, rendimiento de xilitol y de biomasa a partir de xilosa, mientras que la concentración final de xilitol se mostró afectada por los efectos de las variables objeto de análisis, de manera individual. De manera global, la variable relación volumen del medio/volumen del matraz, que establece las condiciones de aireación en el medio, tuvo implicaciones relevantes en los diferentes tratamientos, en especial con los tiempos de duración de las corridas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alves, L.A., M.G.A. Felipe, A. Silva, S.S. Silva and A.M. Prata. 1998. Pretreatment of sugar cane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 70-72(1): 89-98.
- Carvalho, W., S.S. Silva, J.C. Santos and A. Converti. 2003. Xylitol production by Ca-alginate entrapped cells: comparison of different fermentation systems. Enzyme and Microbial Technology 32(5): 553-559.
- De Faveri, D., P. Torre, P. Perego, A. Converti. 2004. Statistical investigation on the effects of starting xylose concentration and oxygen mass flow-rate on xylitol production from rice straw hydrolysate by response surface methodology. Journal of Food Engineering 65(3): 383-389.
- Emodi, A. 1978. Xylitol: It's properties and food applications. Food Technology 28-32.
- FEDEARROZ. 2006. Índice mensual de producción de Arroz. Revista Arroz. 54 (461): 27.
- Horitsu, H., Y. Yahashi, K. Takamisawa, K. Kawai, T. Suzuki and N. Watanabe. 1992. Production of xylitol from D-xylose by *C. tropicalis*: optimization of production rate. Biotech. Bioeng 40(9): 1085-1091.
- Kadam, K.L., L.H. Forrest and W.A. Jacobson. 2000. Rice straw as a lignocellulosic resource: Collection, processing, transportation, and environmental aspects. Biomass and Bioenergy 18 (5): 369-389.
- Martínez, E.A., J.B. Almeida, L. Canilha, M. Villarreal, A.I. Solenzal and S.I. Mussatto. 2002. Uso de diferentes materias primas para la producción biotecnológica de xilitol. Ciencia y Tecnología Alimentaria 3 (5): 295-301.
- Mussatto, S.I. and I.C. Roberto. 2004. Kinetic behavior of *Candida guilliermondii* yeast during xylitol production from highly concentrated hydrolysate. Process Biochemistry 39(11): 1433-1439.
- Nolleau, V., L. Preziosi-Belloy, J.P. Delgenes and J.M. Navarro. 1993. Xylitol production from xylose by two yeast strains: Sugar tolerance. Current Microbiology 27(4): 191-197.
- Preziosi-Belloy, L., V. Nolleau and J.M. Navarro. 1997. Fermentation of hemicellulosic sugars and sugar mixtures to xylitol by *Candida parapsilosis*. Enzyme and Microbial Technology 21(2): 124-129.
- Roberto, I.C., S.I. Mussatto and R.C. Rodrigues. 2003. Dilute-acid hydrolysis for optimization of xylose recovery from rice straw in a semi-pilot reactor. Industrial Crops and Products 17(3): 171-176.
- Sampaio, F., H.C. Mantovani, F.J. Vieira, C.A. De Morales, A. Converti and F.M. Lopes. 2005. Bioconversion of D-xylose to xylitol by *Debaryomyces hansenii* UFV-170: Product formation versus growth. Process Biochemistry 40(11): 3600-3606.
- Silva, C.J., S.I. Mussatto and I.C. Roberto. 2006. Study of xylitol production by *Candida guilliermondii* on a bench bioreactor. Journal of Food Engineering 75(1): 115-119.
- Silva, C.J. and I.C. Roberto. 2001. Optimization of xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI-20037 using response surface methodology. Process Biochemistry 36(11): 1119-1124.
- Vanegas, I.A. 2004. Aislamiento y caracterización de cepas nativas de levaduras productoras de xilitol. Tesis de Maestría en Biotecnología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. 96 p.
- Walther, T., P. Hensirisak and F.A. Agblevor. 2001. The influence of aeration and hemicellulosic sugars on xylitol production by *Candida tropicalis*. Bioresource Technology 76(3): 213-220.
- Winkelhausen, E. and S. Kuzmanova. 1998. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. Journal of Fermentation and Bioengineering 86 (1): 1-14.
- Yahashi, Y., H. Horitsu, K. Kawai, T. Suzuki and K. Takamizawa. 1996. Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis*: The effect of D-glucose feeding. Journal of Fermentation and Bioengineering 81 (2): 148-152.