

## EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE XILITOL POR *Debaryomyces hansenii* EN MEDIOS A BASE DE HIDROLIZADOS NO DETOXIFICADOS DE BAGAZO DE SORGO RB-PALOMA

E.M. Ledezma-Orozco<sup>a</sup>, G.C. Rodríguez-Castillejos<sup>a\*</sup>, G. Bustos Vázquez<sup>b</sup>, C. Lizarazo-Ortega<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Tamaulipas, UAM Reynosa-Aztlán.

<sup>b</sup> Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma de Tamaulipas, UAM Mante. <sup>c</sup> Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional. \*gcastillejos@uat.edu.mx

### RESUMEN:

El xilitol es un azúcar alcohol de cinco carbonos, tiene diversas aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica y odontológica; además tiene un alto poder edulcorante, propiedades anticariogénicas y su metabolismo es independiente de insulina. La conversión de hidrolizados hemicelulósicos por microorganismos es una vía alternativa a la síntesis química. Es un proceso simple, con pocos requerimientos energéticos. Sin embargo, el éxito de la fermentación para obtención de xilitol depende de la productividad de la cepa y su tolerancia a compuestos tóxicos inhibidores. Los desechos lignocelulósicos de la producción de sorgo son una materia prima muy útil para la producción de xilosa por medio de hidrólisis, que a su vez, puede convertirse a xilitol. Por ello el objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de xilitol por *Debaryomyces hansenii* en medios a base de hidrolizados ácidos de paja de sorgo RB Paloma. Se determinó la concentración de xilosa y los productos de degradación como ácido acético y furfural. La concentración máxima de xilitol fue de 27 g/L a las 24 h de fermentación, un rendimiento en producto ( $Y_p/s$ ) de 0.78 g/g y productividad volumétrica ( $Q_p$ ) de 0.38 g/L/h.

### ABSTRACT:

Xylitol, a five-carbon sugar alcohol, has many interesting applications in the food, pharmaceutical, and odontological industries, owing to its high sweetening power, its anticariogenic properties, and its insulin-independent metabolism. The bioconversion of detoxified hemicellulosic hydrolysate to xylitol by microorganisms could be a cheaper alternative to the current chemical process, since it is a simple process, with great specificity and low energy requirements. However, the success of fermentations for xylitol production depends on the productivity of the strain and its tolerance to different toxic or inhibitory compounds existing in the hydrolysates. Lignocellulosic waste from sorghum production is a raw material useful for the xylose production by hydrolysis and it can be converted to xylitol. The maximum concentration of xilitol was 27 g/L, a product yield ( $Y_p/s$ ) 0.78 g/g and productivity 0.38 g/L/h.

**Palabras clave:** Xilitol, Sorgo, hidrolizados no detoxificados

**Keywords:** Xylitol, Sorghum, non-detoxified

**Área:** Microbiología y Biotecnología

### INTRODUCCIÓN

El xilitol es un polialcohol de cinco átomos de carbono, se utiliza como edulcorante debido a su poder endulzante similar al de la sacarosa pero con un aporte calórico (2.4 Kcal/g) inferior al de este azúcar (4.0 Kcal/g) y que posee diversas propiedades

de interés para las industrias de alimentos, fármacos y cosméticos (1). La principal vía de producción es la química, y se realiza una hidrogenación catalítica de xilosa, este proceso requiere el uso de altas presiones y temperaturas además de extensas etapas de purificación de la solución de xilosa, esta vía es cara, generando poca productividad y elevados precios cerca de 10 veces superior al de la sacarosa, alternativamente, la producción de xilitol puede ser realizada por vía biotecnológica, la cual puede ser más viable económicamente pues requiere el uso de condiciones más amenas de presión y temperatura (2).

La obtención de xilitol por microorganismos, se basa en la conversión de la xilosa por ciertos microorganismos (3). Esta vía de producción permite aprovechar distintos residuos forestales y agrícolas, dichos residuos son hidrolizados y representan un sustrato económico que están constituidos principalmente de lignocelulosa, hemicelulosa y celulosa, la hemicelulosa está formada por hexosas y pentosas las cuales podemos usar para diversos fines (4). Sin embargo, existen varios aspectos que deben optimizarse con el fin de minimizar la producción de costos, en particular los relacionados con la detoxificación y la suplementación de nutrientes del medio de fermentación. La fuente de nitrógeno óptima para la fermentación de una solución de xilosa, la cual depende el microorganismo empleado y el origen de la fuente de carbono, ya que algunos residuos agrícolas ya proporcionan los requisitos nutricionales que la mayoría de los microorganismos asimilan (5).

La mayoría de los microorganismos asimilan y fermentan más eficientemente la glucosa que la xilosa, sin embargo, existen bacterias, levaduras y hongos capaces de asimilar y fermentar xilosa a xilitol. Se ha reportado en un grupo reducido de bacterias como *Corynebacterium*, *Enterobacter* y *mycobacterium* que producen xilitol; sin embargo, las cantidades producidas son muy pequeñas por lo cual no son viables la producción industrial. Por otro lado las levaduras son las mejores productoras de xilitol, especialmente las del genero *Candida* (6). Por ello el objetivo de esta tranajo fue evaluar la producción de xilitol por *D. hansenii*, en medios a base de hidrolizados ácidos de paja de sorgo sin detoxificar. Los resultados mostraron que es viable el uso de paja de sorgo para la obtención de xilosa, la cual puede ser convertida en xilitol por la levadura. Se obtuvo una concentración máxima de xilosa de  $63.82 \pm 0.78$  g/L. Por otro lado, la máxima concentración de xilitol obtenida fue 27 g/L a las 24 h de fermentación, con una  $Y_p/s$  de 0.78 g/g y  $Q_p$  de 0.38 g/L/h. Estos resultados muestran que *D. hansenii* es capaz de crecer y metabolizar xilosa aún en presencia de compuestos inhibidores, y que la xilosa obtenida del bagazo de sorgo RB Paloma es una buena fuente carbono para la levadura.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Para la hidrolisis del bagazo de sorgo se utilizó  $H_2SO_4$  al 6%, 80 minutos a  $120^\circ C$ , con una relación solido líquido 1:10. Una vez obtenidos los hidrolizados se ajustó el pH a 5 con  $CaCO_3$ ; el hidrolizado fue filtrado y esterilizado. Por otro lado la cepa de *Debaryomyces hansenii* se inoculo en un medio a base de xilosa comercial (30 g/L) suplementado con 5 g/L peptona, 3 g/L Extracto de Levadura y 3 g/L extracto de malta. La fermentación siguió un diseño factorial  $2 \times 2 \times 3$  Temperatura 30 y  $35^\circ C$ , a 150 y 200 rpm y a 30 y 40 y 50g/L de xilosa durante 96 horas, se tomo muestra cada

12 horas para el análisis de xilosa y xilitol por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los hidrolizados ácidos de paja de sorgo tuvieron una concentración máxima de xilosa de  $63.82 \pm 0.78$  g/L de xilosa y un  $10.24 \pm 0.27$  de ácido acético y  $7.97 \pm 1.48$  de furfural. Herazo et al., (2009) utilizaron una concentración de 32,5 g/L de xilosa a partir de hidrolizados de paja de arroz, obtenidos con 2% de ácido sulfúrico, y tiempo de reacción de 30 minutos (7), Garcia et al., (2010) realizaron una auto hidrolisis de paja de olivo a una velocidad de agitación de 250 rpm y 200°C, seguida de post-hidrólisis ácida a 90° C y 250 rpm por tres horas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N. Obtuvieron con ello un máximo de 78 g de D-xilosa por kg de residuo de paja utilizado(8). Mientras que Amador et al., 2012 utilizaron 6% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 98 °C por 83 min, dando un rendimiento de 26.9 g xilosa/L, 2.61 g glucosa/L, 7.71 g ácido acético/L y 0.29 g furfural/L (9).

Una vez obtenidos los hidrolizados se procedió a realizar las fermentaciones con las diferentes combinaciones de temperatura, velocidad de agitación y concentración de xilosa. En la tabla I, se observa la producción de xilitol de cada tratamiento. Los tratamientos tx 2 , tx 5 y tx 6 mostraron las concentraciones más altas de xilitol, 25.99 g/L a las 24h, 27.07 g/L a las 24h y 29.23 a las 48h respectivamente. Cabe mencionar que después de las 36 horas la concentración de xilosa se había disminuido hasta casi 3 g/L a las 48 horas la concentración de xilitol empieza a disminuir, esto debido a la degradación del xilitol a Xilulosa.

**Tabla I.** Tratamientos, Producción de Xilitol, Factor de conversión y Productividad Volumétrica

| TX | Xilosa (g/L) | °C | RPM | Xilitol (g/L) | Hrs | Yp/s (g/g) | Qp (g/L/h) |
|----|--------------|----|-----|---------------|-----|------------|------------|
| 1  | 40           | 30 | 150 | 23.4          | 24  | 0.67872445 | 0.62195185 |
| 2  | 30           | 30 | 150 | 25.99         | 24  | 1.02827766 | 0.68414938 |
| 3  | 40           | 30 | 200 | 22.74         | 48  | 0.65966465 | 0.47373194 |
| 4  | 30           | 30 | 200 | 22.73         | 48  | 0.81805487 | 0.47356204 |
| 5  | 40           | 35 | 150 | 27.07         | 24  | 0.78424794 | 0.38276944 |
| 6  | 30           | 35 | 150 | 29.23         | 48  | 1.16248653 | 0.60892639 |
| 7  | 40           | 35 | 200 | 19.22         | 36  | 0.5102592  | 0.53382716 |
| 8  | 30           | 35 | 200 | 26.4          | 24  | 1.00904224 | 0.59876543 |
| 9  | 50           | 35 | 200 | 21.78         | 24  | 0.45389994 | 0.59259259 |
| 10 | 50           | 30 | 200 | 20.44         | 24  | 0.42793796 | 0.4117284  |
| 11 | 50           | 30 | 150 | 15.93         | 24  | 0.3470226  | 0.4117284  |

Carvalho et al., (2005) utilizaron medios a base de hidrolizados de bagazo de arroz sin detoxificar, encontrando una Yp/s de 0.29 g/g , lo que representaba una disminución del 11% comparada con lo obtenido en los hidrolizados detoxificados; así como una Qp de 0.16 g/L/h (10). Por otro lado, Huang et al., 2009 evaluaron la

producción por *P. Stipitis* en medios a base de hidrolizado sin detoxificar de cascarilla de arroz; la Yp/s máxima obtenida fue de 0.44 g/g equivalente al 87% de la conversión máxima teórica(11). Huang et al., 2011 realizaron una fermentación con un hidrolizado sin detoxificar de cascarilla de arroz llegando a obtener 0.71 g/g pero con la levadura *C. tropicalis* (12)

| Fuente              | Suma de Cuadrados | de Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------------|-------------------|-------|----------------|---------|---------|
| EFECTOS PRINCIPALES |                   |       |                |         |         |
| A:xilosa            | 79.4835           | 2     | 39.7417        | 4.64    | 0.0285  |
| B:Temperatura       | 10.1644           | 1     | 10.1644        | 1.19    | 0.2946  |
| C:RPM               | 1.113             | 1     | 1.113          | 0.13    | 0.7240  |
| RESIDUOS            | 120.003           | 14    | 8.57166        |         |         |
| TOTAL (CORREGIDO)   | 222.413           | 18    |                |         |         |

En la tabla II, se muestran los resultados del análisis estadístico, se realizó un ANOVA multivariada con ayuda del programa *Statgraphics Senturion XVI* para determinar que factores eran determinantes para la producción de xilitol. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Los resultados muestran que la concentración de xilosa es el factor determinante en la concentración de xilitol obtenida, mientras que la temperatura y la velocidad de agitación no tienen un efecto sobre la degradación de xilosa de los hidrolizados ácidos de paja de sorgo. Los resultados indican que *D. hansenii* es un buen candidato para la producción de xilitol en hidrolizados ácidos de paja de sorgo sin detoxificar.

## BIBLIOGRAFÍA

- Izquierdo-García, E., Moreno-Villares, J. M., & León-Sanz, M. "Edulcorantes en pacientes con intolerancia hereditaria a la fructosa/Sweeteners in hereditary fructose intolerance patients". *Acta Pediatrica Espanola*, 2014, 72(1), 15.
- Villegas, T. G., & Flores, G. M. "Posibles riesgos para la salud debido al consumo de aspartame". *Enfoque UTE*, 2014, 5(2), pp-1.
- Makinen, K. K. "The rocky road of xylitol to its clinical application". *Journal of Dental Research*, 2000, 79(6), 1352-1355
- Alonso, J. R. "Edulcorantes naturales". *La Granja*, 2010, 12(2), 3-12.
- Liu, I. C., & de Ugaz, O. L. "Moléculas que endulzan". *Revista de Química*, 2013, 5(2), 141-148.
- González, J. C., Álvarez, M., & Ornelas L de C, Z. M. "Producción y aplicaciones biotecnológicas del xilitol". *Bio Tecnología*, 2011, 15(2).
- Herazo, I. C., Ruiz, D., & Arrazola, G. S. (2009). Bioconversión de Xilosa a Xilitol por Candida Guilliermondii Empleando Cascarilla de Arroz (Oriza sativa). *Temas Agrarios*, 14(2).
- García, J. F., Sánchez, S., Bravo, V., & Cuevas, M. (2010). Autohidrólisis y post-hidrólisis ácida del residuo de poda de olivo. *Afinidad*, 67(548)

- Amador, K. R., Carrillo, Ó. R., Aguilar, P. A., & Baudrit, J. V. (2012). Obtención de xilosa a partir de desechos lignocelulósicos de la producción y proceso industrial de la piña (*Ananascomusus*). *Uniciencia*, (26), 75-89.
- Carvalho, F., Duarte, L. C., Lopes, S., Parajó, J. C., Pereira, H., & Girio, F. M. (2005). Evaluation of the detoxification of brewery's spent grain hydrolysate for xylitol production by *Debaryomyces hansenii* CCMI 941. *Process Biochemistry*, 40(3), 1215-1223.
- Huang, C. F., Lin, T. H., Guo, G. L., & Hwang, W. S. (2009). Enhanced ethanol production by fermentation of rice straw hydrolysate without detoxification using a newly adapted strain of *Pichia stipitis*. *Bioresource Technology*, 100(17), 3914-3920.
- Huang, C. F., Jiang, Y. F., Guo, G. L., & Hwang, W. S. (2011). Development of a yeast strain for xylitol production without hydrolysate detoxification as part of the integration of co-product generation within the lignocellulosic ethanol process. *Bioresource technology*, 102(3), 3322-3329.